ĐẠI HỌC HUẾ VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

NGÔ THỊ DIỄM MY

XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN LOÀI VÀ KHẢ NĂNG SINH ĐỘC TỐ CYLINDROSPERMOPSIN CỦA VI KHUẨN LAM TRONG MỘT SỐ THỦY VỰC Ở ĐẮK LẮK

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

HUÉ, 2023

ĐẠI HỌC HUẾ VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

NGÔ THỊ DIỄM MY

XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN LOÀI VÀ KHẢ NĂNG SINH ĐỘC TỐ CYLINDROSPERMOPSIN CỦA VI KHUẨN LAM TRONG MỘT SỐ THỦY VỰC Ở ĐẮK LẮK

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Chuyên ngành: Sinh học Mã số: 9420101

Người hướng dẫn khoa học: 1. PGS.TS. NGUYỄN THỊ THU LIÊN 2. PGS.TS. TÔN THẤT PHÁP

HUÉ, 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu do tôi thực hiện. Các số liệu và kết quả trình bày trong luận án là trung thực và chưa được công bố bởi bất kỳ tác giả nào hay ở bất kỳ công trình nghiên cứu nào khác.

Tác giả

Ngô Thị Diễm My

Lời Cảm Ôn

Chời gian làm nghiên cứu sinh là giai đoạn tôi đã trải qua rất nhiều khó khăn và thử thách. Để hoàn thành luận án này tôi đã nhận được sự giúp đỡ, động viên và chia sẻ kinh nghiệm của nhiều thầy cô, bạn bè và người thân.

Côi xin gửi đến lời cảm ơn và lòng biết ơn sâu sắc đến cha, mẹ. Người đã sinh ra và nuôi dưỡng tôi đến ngày hôm nay.

Côi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến PGS.CS. Nguyễn Chị Chu Liên và PGS.CS. Côn Chất Pháp đã tận tâm hướng dẫn, dìu dắt tôi trong suốt thời gian học tập, nghiên cứu và thực hiện luận án.

Côi xin chân thành cảm ơn PGS.CS. Dương Thị Thủy và PGS.CS. Bùi Mạnh Hà đã giúp đỡ và hỗ trợ tôi trong quá trình nghiên cứu. Côi xin chân thành cảm ơn PGS.CS. Cưương Chị Hồng Hải đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập tại cơ sở đào tạo.

Nin gửi lời cảm ơn đến quý thầy cô phòng thí nghiệm Tế bào, phòng thí nghiệm Công nghệ gen, Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Huế. Phòng thí nghiệm Thực vật, bộ môn Tài nguyên Sinh vật và Môi trường, khoa Sinh, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế đã hỗ trợ, giúp đỡ, tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian thực hiện các thí nghiệm của luận án.

Đặc liệt, tôi xin cảm ơn sự hi sinh hết lòng của chồng Đoàn Phúc Quý cùng sự chăm ngoan, khỏe mạnh của con trai Đoàn Hữu Ngọc. Cảm ơn sự động viên về mặt tinh thần của cô giáo Lê Chị Trễ, nguyên giảng viên Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế đã giúp tôi vượt qua khoảng thời gian đầy khó khăn và thử thách này.

Cuối cùng, tôi xin kính dâng luận án này đến hương hồn người cha đã mất, kính tặng mẹ, chồng, con trai và các em. Những người đã chấp nhận khó khăn và dành hết lòng yêu thương, động viên tôi trong suốt quá trình hoàn thành luận án.

elefter freere

Huế, ngày tháng năm 2023 **Các giả**

Ngô Chị Điễm My

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN i
LỜI CẢM ƠN ii
MỤC LỤCiù
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT vi
DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỔ THỊ viii
DANH MỤC BẢNGx
$M \mathring{O} { ext{$
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU4
1.1. Giới thiệu về vi khuẩn lam4
1.1.1. Đặc điểm chung vi khuẩn lam4
1.1.2. Phân loại vi khuẩn lam5
1.2. Độc tố cylindrospermopsin9
1.2.1. Cấu trúc hóa học9
1.2.2. Tính chất9
1.2.3. Hàm lượng độc tố cylindrospermopsin trong các thủy vực trên thế giới 10
1.2.4. Quá trình tổng hợp độc tố cylindrospermopsin12
1.2.5. Độc tính của cylindrospermopsin13
1.3. Phương pháp xác định VKL có khả năng sinh độc tố CYN18
1.3.1. Nhóm gen tham gia quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN18
1.3.2. Phương pháp nhận dạng, phân loại VKL có khả năng sinh độc tố CYN.19
1.3.3. Phương pháp xác định độc tố CYN21
1.4. Tình hình nghiên cứu về độc tố CYN và các loài VKL có khả năng sinh độc tố
CYN trên thế giới và ở Việt Nam22
1.4.1. Trên thế giới22
1.4.2. Ở Việt Nam
1.4.3. Ở Đắk Lắk
1.5. Điều kiện tự nhiên chung của khu vực nghiên cứu
1.5.1. Vị trí địa lý
1.5.2. Khí hậu
1.5.3. Đặc điểm các hồ chứa nghiên cứu36

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	38
2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu	38
2.1.1. Đối tượng	38
2.1.2. Địa điểm nghiên cứu	38
2.1.3. Thời gian nghiên cứu	39
2.2. Phương pháp nghiên cứu	39
2.2.1. Phương pháp nghiên cứu ngoài thực địa	39
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu trong phòng thí nghiệm	40
2.2.3. Xử lý số liệu	47
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	48
3.1. Thành phần loài VKL hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong, tỉnh Đắk Lắk	48
3.1.1. Thành phần loài VKL	48
3.1.2. Mô tả hình thái các loài VKL nghiên cứu	53
3.1.3. Các loài VKL có khả năng sinh ra độc tố trong hồ Ea Nhái và hồ	
Buôn Phong	70
3.2. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong hồ E	a
Nhái và hồ Buôn Phong	72
3.2.1. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong	hồ
Ea Nhái	72
3.2.2. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong	hồ
Buôn Phong	75
3.3. Khả năng sinh độc tố của các chủng tảo phân lập	79
3.3.1. Kết quả phân lập và nuôi cấy	79
3.3.2. Hàm lượng độc tố CYN trong các chủng phân lập	86
3.3.3. Sự hiện diện của các gen liên quan đến sự tổng hợp độc tố CYN tron	g các
chủng VKL	88
3.3.4. Mối tương quan giữa các gen tổng hợp độc tố và kết quả thăm dò độc	c tố
CYN trong các chủng nuôi cấy	92
3.4. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học c	của
các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong ł	1ồ Ea
Nhái và hồ Buôn Phong	97

3.4.1. Ánh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến độ	ng thể tích sinh học
của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượ	ợng độc tố CYN
trong hồ Ea Nhái	97
3.4.2. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến độ	ng thể tích sinh học
của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượ	ợng độc tố CYN
trong hồ Buôn Phong	
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ	111
ΓÀI LIỆU THAM KHẢO	
DANH MUC PHU LUC	

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

ADN	: Acid Deoxyribonucleic		
	Phân tử acid nucleic		
CTAB	: Cetyl trimethylammonium bromide		
CyanoHABs : Cyanobacterial Harmful Algal Blooms			
	Nở hoa các loài vi khuẩn lam độc hại		
CYN	: Cylindrospermopsin		
DO	: Dissolved Oxygen		
	Ôxy hòa tan		
DOP	: Dissolved organic phosphorus		
	Phốt pho hữu cơ hòa tan		
DON	: Dissolved organic nitrogen		
	Nitơ hữu cơ hòa tan		
DIP	: Dissolved inorganic phosphorus		
	Phốt pho vô cơ hòa tan		
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay		
	Thí nghiệm hấp thụ miễn dịch enzym liên kết		
HPLC	: High-performance liquid chromatography		
	Sắc ký lỏng hiệu năng cao		
ICN	: International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants		
	Mã danh pháp quốc tế cho tảo, nấm và thực vật		
ICNB	: International Code of Nomenclature of Bacteria		
	Mã danh pháp quốc tế về vi khuẩn		
ISO	: International Organization for Standardization		
	Tổ chức tiêu chuẩn hóa quốc tế		
MOSTE	: Ministry of Science, Technology and Environment		
	Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường		
N-NH ₄	: Ni tơ ở dạng amoni		
N-NO ₃	: Ni tơ ở dạng nitrat		

NTU	: Nephelometric Turbidity Units	
	Đơn vị đo độ đục theo thang Nephelo	
OECD	: Organisation for Economic Co-operation and Development	
	Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế	
PCA	: Principal Component Analysis	
	Phân tích thành phần chính	
PCR	: Polymerase-Chain-Reaction	
	Phản ứng chuổi pôlimeraza	
PS	: Peptide synthetases	
	Các chất tổng hợp peptide	
PKS	: Polyketide synthases	
	Các chất tổng hợp polyketide	
P-PO ₄	: Orthophosphat-P hòa tan	
Temp.	: Temperature	
	Nhiệt độ	
TN	: Tổng ni tơ	
TP	: Tổng phốt pho	
TVPD	: Thực vật phù du	
VKL	: Vi khuẩn lam	
WHO	: World Health Organization	
	Tổ chức y tế thế giới	

DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỔ THỊ

Hình 1.1. Cấu tạo tế bào vi khuẩn lam5
Hình 1.2. Cấu trúc của phân tử CYN9
Hình 2.1. Bản đồ các vị trí thu mẫu của 2 hồ chứa, tỉnh Đắk Lắk
Hình 3.1. Tỷ lệ phần trăm số loài theo các bộ ở hai hồ nghiên cứu50
Hình 3.2. Tỷ lệ phần trăm số loài trong các chi VKL ở hồ nghiên cứu51
Hình 3.3. Các loài VKL a,b. Microcystis aeruginosa; c. Microcystis panniformis; d.
Microcystis flos-aquae; e. Microcystis wesenbergii; f. Microcystis botrys trong hồ
Ea Nhái và hồ Buôn Phong64
Hình 3.4. Các loài VKL a. Microcystis novacerkii; b. Microcystis cf natan;65
c,d. Microcystis sp.1; e,f. Microcystis sp.2 trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong65
Hình 3.5. Các loài VKL a. Aphanocapsa holsatic; b. Merismopedia tenuissima; c,d.
Snowella fennica; e,f. Woronichinia compacta; g,h. Woronichinia naegeliana trong
hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong66
Hình 3.6. Các loài VKL a. Oscillatoria limosa; b. Oscillatoria sancta; c. Oscillato-
ria sp.1; d. Oscillatoria sp.2; e. Oscillatoria sp.3; f. Phormidium incrustatum; g.
Phormidium willei; h,i. Phormidium acticulatum; j. Pseudanabaena mucicola; k.
Pseudanabaena minima; 1. Planktolyngbya limnetica; m. Planktolyngbya circumc-
<i>reta</i> trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong67
Hình 3.7. Các loài VKL a. Anabaena sp.1; b. Chrysosporum ovalisporum;
c. <i>Anabaena</i> sp.2; d. <i>Dolichospermum circinale</i> trong hồ Ea Nhái và hồ
Buôn Phong
Hình 3.8. Các loài VKL a,b,c,d. Raphidiopsis raciborskii; e,f. Raphidiopsis medite-
rranea; g,h. Raphidiopsis curvata trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong69
Hình 3.9. Sự biến đổi theo mùa thể tích sinh học của R. raciborskii, R. curvata, R.
<i>mediterranea</i> và hàm lượng CYN ở hồ Ea Nhái từ tháng 5/2019 đến tháng 4/202074
Hình 3.10. Sự biến đổi theo mùa thể tích sinh học của <i>R. raciborskii; Anabaena</i> sp.2
và hàm hàm lượng CYN ở hồ Buôn Phong từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020

Hình 3.12. Hình thái các loài VKL a,b. Raphidiopsis mediterranea; c,d. Raphidiop-
sis curvata và e-i. Anabaena sp.2 trong nuôi cấy
Hình 3.13. Hình thái các loài VKL a,b. Dolichospermum circinale; c-e. Lyngbya
sp.; f,g. Planktolyngbya circumcreta; h. Oscillatoria sp.3 trong nuôi cấy85
Hình 3.14. Kết quả PCR khuếch đại gen <i>cyrB (PS)</i> của các chủng VKL phân lập ở
hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong89
Hình 3.15. Kết quả PCR khuếch đại gen <i>cyrB (PS)</i> của các chủng VKL phân lập ở
hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong89
Hình 3.16. Kết quả PCR khuếch đại gen cyrC (PKS) của các chủng VKL phân lập ở
hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong90
Hình 3.17. Kết quả PCR khuếch đại gen cyrC (PKS) của các chủng VKL phân lập ở
hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong91
Hình 3.18. Phân tích thành phần chính (PCA) dựa trên các yếu tố sinh học và phi
sinh học trong thời kì từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ Ea Nhái100
Hình 3.19. Phân tích thành phần chính (PCA) dựa trên các yếu tố sinh học và phi
sinh học trong thời kì từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ Buôn Phong102

DANH MỤC BẢNG

Bång 1.1. Hệ thống phân loại VKL theo Komárek & Anagnostidis 1999, 20058
Bảng 2.1. Vị trí thu mẫu38
Bảng 2.2. Các yếu tố thủy hóa được phân tích trong hai hồ nghiên cứu45
Bảng 2.3. Những cặp mồi được sử dụng để khuếch đại phân đoạn gen <i>cyrB</i> và <i>cyrC</i> 46
Bảng 3.1. Thành phần loài VKL ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong48
Bảng 3.2. Thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố ở hồ Ea Nhái và hồ
Buôn Phong70
Bảng 3.3. Mối tương quan giữa thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh
độc tố và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái74
Bảng 3.4. Mối tương quan giữa thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh
độc tố và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong76
Bảng 3.5. Danh sách các chủng VKL phân lập từ hai hồ nghiên cứu80
Bảng 3.6. Hàm lượng độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập từ hai hồ
nghiên cứu86
Bảng 3.7. Sự hiện diện của phân đoạn gen <i>cyrB</i> và <i>cyrC</i> trong các chủng VKL có
khả năng sinh độc tố CYN92
Bảng 3.8. Hàm lượng độc tố CYN và sự hiện diện các phân đoạn gen liên quan đến
sự sinh độc tố CYN ở các chủng VKL phân lập96
Bảng 3.9. Các thông số môi trường hồ Ea Nhái từ tháng 5/2019 đến tháng 4/202098
Bảng 3.10. Mối tương quan Pearson giữa thể tích sinh học của những loài VKL có
khả năng tạo độc tố CYN và các yếu tố môi trường ở hồ Ea Nhái từ tháng 5/2019
đến tháng 4/2020
Bảng 3.11. Các thông số môi trường hồ Buôn Phong từ tháng 5/2019 đến tháng
4/2020101
Bảng 3.12. Mối tương quan Pearson giữa thể tích sinh học của những loài VKL có
khả năng tạo độc tố CYN và các yếu tố môi trường ở hồ Buôn Phong từ tháng
5/2019 đến tháng 4/2020103

MỞ ĐẦU

Đắk Lắk là một tỉnh nằm trên địa bàn Tây Nguyên Việt Nam với nhiều vùng đất ngập nước có cấu trúc và nguồn gốc khác nhau (MOSTE, 2001). Nơi đây được mệnh danh là "Xứ sở của hồ" với phần lớn trong số chúng là hồ chứa. Bên canh vai trò tư nhiên của hồ như điều hòa khí hậu, điều tiết dòng chảy, hồ còn là nguồn cung cấp nước mặt chủ yếu cho các hoạt động sống như: cung cấp nước uống, nước sinh hoạt, chăn nuôi, trồng trọt, nuôi trồng thủy sản và dịch vụ du lịch (Sở NN&PTNN Đắk Lắk, 2018). Gần đây, do biến đổi khí hậu, Đắk Lắk đã xuất hiện những hiện tượng thời tiết cực đoan như: mưa lớn trong một thời gian ngắn, khô hạn kéo dài khắc nghiệt đã làm giảm lượng nước và tăng thời gian tồn lưu nước trong hệ thống hồ chứa. Điều này sẽ thúc đẩy quá trình phú dưỡng bên trong hệ thống hồ. Bên cạnh đó, việc thay đổi diện tích và muc đích sử dung đất, canh tác nông nghiệp không hợp lí xung quanh vùng lưu vực đã đưa vào hồ một lượng lớn dự lượng phân bón và thuốc trừ sâu hóa học. Cùng với lượng nước thải sinh hoạt, đây được xem là nguyên nhân làm suy giảm chất lương nước, gây ra hiên tương phú dưỡng trong các thủy vực dang hồ ở Đắk Lắk. Hiên tương này dẫn đến tăng đô đục, tăng hàm lương dinh dưỡng và tăng sinh khối thực vật phù du, đặc biệt là nhóm loài vi khuẩn lam (VKL) độc hại.

Trên thế giới, hiện tượng phú dưỡng trong các thủy vực nước ngọt dạng hồ cùng với sự ấm lên toàn cầu đã kích thích sự nở hoa của nhóm loài VKL độc hại theo hướng tăng cả tần suất, cường độ và thời gian (Huisman và cs., 2018). Một số chi VKL sinh độc tố có khả năng hình thành hiện tượng nở hoa (CyanoHABs) gây thiệt hại lớn về kinh tế, phá võ hệ sinh thái và tạo ra các loại độc tố tự nhiên giải phóng trực tiếp vào môi trường nước (GonzálezPleiter và cs., 2020). Bên cạnh microcystin (MC), cylindrospermopsin (CYN) là một trong những loại độc tố VKL được nghiên cứu phổ biến do khả năng phân bố toàn cầu, khả năng tích lũy sinh học và gây độc tính trên nhiều cơ quan ở người và động vật (gan, thận, phổi, tim, tuyến ức, lá lách, tuyến thượng thận, ruột...) (Flores-Rojas và cs., 2019; Svirčev và cs., 2019; Scarlett và cs., 2020; Wang và cs., 2020). Phần lớn độc tố VKL tồn tại chủ yếu trong nội bào và được giải phóng ra ngoài khi tế bào bị vỡ. Nhưng riêng với độc tố CYN, phần lớn

lượng độc tố được giải phóng vào môi trường nước khi tế bào con nguyên vẹn. Bên cạnh đó, CYN có tính ổn định hóa học cao, tan mạnh trong nước và tốc độ phân hủy chậm dưới ảnh hưởng của các yếu tố phi sinh học trong tự nhiên (Mecaft và cs., 2014; Stefanova và cs., 2020). Điều này có thể làm tăng nguy cơ tiếp xúc và hấp thụ độc tố của các loài sinh vật thủy sinh, gây ra nhiều rủi ro tiềm ẩn và khó khăn trong việc sử dụng và quản lý nguồn nước.

Gần đây, hiện tượng nước đối màu, xuất hiện mùi khó chịu thường xuyên xảy ra vào mùa khô trong một số hồ chứa trên địa bàn tỉnh Đấk Lắk. Bên cạnh đó, sự xuất hiện của nhóm loài VKL sinh độc tố CYN đã được quan sát thấy trong một số hồ chứa nơi đây nhưng chưa có dữ liệu về độc tố (Lê Thương, 2010). Những thủy vực này đòi hỏi một chương trình giám sát sinh học hiệu quả. Tuy nhiên, những nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào điều tra thành phần loài thực vật phù du; biến động cấu trúc quần xã thực vật phù du (Lê Thương, 2010; Dao, 2016). Chưa có các công trình nghiên cứu về nhóm loài VKL độc và khả năng sinh độc tố CYN của nhóm loài này trong các thủy vực ở Đấk Lắk. Vì vậy, "Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố cylindrospermopsin của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đấk Lắk" bên cạnh cung cấp thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN, kết quả sẽ làm cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm, rủi ro tiềm ẩn của các loài VKL độc trong vấn đề sử dụng và quản lý nguồn nước.

Mục tiêu nghiên cứu

Đánh giá sự đa dạng về thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Đánh giá rủi ro tiềm ẩn của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN thông qua đánh giá sự biến động thể tích sinh học và hàm lượng độc tố CYN trong môi trường tự nhiên cũng như khả năng sinh độc tố CYN của các chủng VKL phân lập được trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Xác định nhân tố môi trường chủ đạo ảnh hưởng đến sự biến động quần thể của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.

Nội dung nghiên cứu

Xác định thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Phân tích sự biến động theo mùa thể tích sinh học của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.

Phân lập và xác định khả năng sinh độc tố CYN của các chủng thông qua xác định sự hiện diện của gen liên quan đến sự sinh tổng hợp độc tố CYN và hàm lượng độc tố của các chủng VKL phân lập được trong hai hồ nghiên cứu.

Xác định mối tương quan giữa các điều kiện môi trường tự nhiên và sự hiện diện của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

Cung cấp danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk, góp phần bổ sung vào danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng tạo độc tố này trong các thủy vực ở Việt Nam.

Đánh giá sự biến động quần thể VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hai hồ. Từ đó xác định yếu tố môi trường chủ đạo kiểm soát sự sinh trưởng quần thể VKL sinh độc tố CYN trong tự nhiên để có biện pháp kiểm soát và kiềm chế sự phát triển bùng phát của nhóm loài VKL độc này.

Kết quả sẽ làm cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm cũng như đề xuất biện pháp quản lý nhóm loài VKL độc hại, góp phần bảo vệ nguồn tài nguyên nước, bảo vệ sức khoẻ cộng đồng.

Những điểm mới của luận án

Là công trình nghiên cứu đầu tiên công bố về thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái, Đắk Lắk. Thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN hồ Buôn Phong, Đắk Lắk.

Lần đầu tiên cung cấp dữ liệu về hàm lượng độc tố CYN trong tự nhiên, hàm lượng độc tố và gen sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập từ hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Xác định được các nhân tố môi trường chính (P-PO₄, N-NH₄, TP, TN và nhiệt độ) ảnh hưởng đến sự biến động quần thể của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong các thủy vực này.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Giới thiệu về vi khuẩn lam

1.1.1. Đặc điểm chung vi khuẩn lam

VKL là sinh vật nhân sơ, tế bào chưa có nhân chính thức và các bào quan. Đặc biệt, VKL thiếu lục lạp thay vào đó chất diệp lục cho quá trình quang hợp được chứa trong các thylakoid đơn giản, nơi diễn ra các phản ứng phụ thuộc vào ánh sáng của quá trình quang hợp (ngoại trừ *Gloeobacter* spp. không có thylakoid). Tế bào phân làm hai vùng, vùng trung bào chất chứa yếu tố di truyền và vùng sắc bào chất chứa các bảng quang hợp (thylakoids). Các bảng quang hợp chứa các sắc tố chlorophyll *a*, β -caroten, xanthophyll và phycobiliprotein. Với nhóm tảo có sắc tố chlorophyll *b* thì không có sắc tố phycobiliprotein và các bảng quang hợp dính thành cặp đôi. Chất dự trữ là tinh bột VKL. Ngoài ra, ở tế bào chất còn gặp các hạt phycocyanin tích trữ protein, các hạt volutin dự trữ phosphate và thể carboxy chứa enzyme Rubisco.

VKL xuất hiện ở dạng đơn bào, tập đoàn hoặc đa bào dạng sợi. Tế bào VKL có thể có hình cầu, hình elip, hình thùng, hình trụ, hình nón hoặc hình đĩa. Chúng không có roi và thành tế bào cấu tạo bằng peptidoglican giống vi khuẩn. Tuy nhiên, nhiều loài ở dạng sợi, thể hiện khả năng di chuyển lượn, cơ chế của chúng vẫn chưa được hiểu đầy đủ (Chorus và Welker, 2021).

Ngoài hình thức dinh dưỡng chủ yếu là quang tự dưỡng, VKL còn có khả năng quang dị dưỡng, dị dưỡng, sử dụng các chất hữu cơ có trong môi trường dưới dạng nguồn năng lượng bổ sung. VKL có khả năng cố định nitrogen của không khí thông qua tế bào dị hình (heterocyte). Quá trình còn được gọi là diazotrophy liên quan đến nitrogenase, các enzym có khả năng khử nitơ không khí thành amoni. Tế bào dị hình là những tế bào chuyên biệt, có vách dày và có các nốt cực ở phần tiếp xúc giữa tế bào dị hình và tế bào dinh dưỡng.

VKL không có sinh sản hữu tính, chỉ sinh sản dinh dưỡng phân đôi tế bào hay tảo đoạn và sinh sản vô tính bằng nội bào tử và ngoại bào tử. Bào tử nghỉ (akinete) cũng được hình thành để giúp VKL vượt qua được điều kiện bất lợi của môi trường. Akinete được đặc trưng bởi kích thước lớn hơn so với tế bào sinh dưỡng. Thành tế bào có nhiều lớp, thường chứa các hạt glycogen và cyanophycin. Sự hình thành và nảy mầm của bào tử nghỉ được kích hoạt bởi các điều kiện môi trường. Vị trí, số lượng và sự phân bố của các dị bào và bào tử nghỉ là những đặc điểm hình thái quan trọng của loài và chi.



Hình 1.1. Cấu tạo tế bào vi khuẩn lam (Hoek và cs., 1998) 1.1.2. Phân loại vi khuẩn lam

Cũng như tất cả các sinh vật, tiêu chí quan trọng để phân loại VKL trong hệ thống phân loại là các mối quan hệ phát sinh loài. Mối quan hệ này phản ánh sự phân nhóm của các sinh vật trong các đơn vị phân loại. Đơn vị phân loại (Taxon) là nhóm các sinh vật cụ thể có chung một tổ tiên tiến hóa và có thể ở bất cứ bậc phân loại nào như: bộ, họ, chi, loài và dưới loài.

Đối với VKL, việc phân loại còn phức tạp vì có hai hệ thống danh pháp phân loại khác nhau cùng tồn tại: Bộ luật danh pháp Quốc tế về tảo, nấm và thực vật (ICN) và Bộ luật danh pháp Quốc tế về vi khuẩn (ICNB). Ngày nay, hầu hết các loài VKL đã được mô tả theo mã danh pháp thực vật dựa trên các đặc điểm hình thái học. Trong lịch sử, nhiều hệ thống phân loại VKL dựa trên các đặc điểm hình thái và tế bào học như Gomont 1892; Bornet và Flahault, 1886-1888; Geitler, 1942. Do bản chất nhân sơ của VKL, Stainer và cs. (1978) đề xuất sử dụng phương pháp đa pha (phương pháp đã được sử dụng cho vi khuẩn) để phân loại VKL. Phương pháp này dựa trên việc đánh giá các đặc điểm hình thái, sinh lý, tế bào học và sinh hóa bằng cách sử dụng các chủng nuôi cấy vô khuẩn làm đơn vị phân loại cơ bản. Tương tự, Rippka và cs. (1979) và Castenholz và cs. (2001) đã đề xuất sử dụng mã danh pháp vi khuẩn để phân loai VKL thành 5 phần (section I = Chroococcales, section II = Pleurocapsales,section III = Oscillatoriales, section IV = Nostocales và section V = Stigonematales) thay vì các bộ (Order) như các hệ thống phân loại khác. Anagnostidis và Komarek (1985) đã đưa ra một hệ thống phân loại sửa đổi chủ yếu dựa theo phương pháp tiếp cận thực vật. Hệ thống này sử dụng những đặc điểm hình thái như sự phân chia tế bào, phân cực, sự phân nhánh, thuôn nhỏ dần của sợi và sự hình thành của hormogonia để xác định và phân biệt chi. Những dữ liệu có sẵn về hình thái, sinh lý, di truyền, sinh thái được sử dụng để đánh giá tính hợp lệ của loài được mô tả trước đây và xác đinh đơn vi phân loại. Công trình này tập trung vào việc xác đinh hình thái của hầu hết các loài VKL trong các mẫu tư nhiên và được các nhà sinh thái học sử dụng phổ biến để nghiên cứu sư đa dang của VKL.

Tuy nhiên, Komarek và Anagnostidis (1989) ước tính rằng hơn 50% các chủng trong các bộ sưu tập nuôi cấy không được xác định chính xác theo phương pháp này. Một số đặc điểm nhận dạng như không bào khí, bào tử nghỉ (akinetes) có thể biến đổi ở những môi trường khác nhau hoặc trong điều kiện sinh trưởng và thậm chí bị mất trong quá trình nuôi cấy. Hơn nữa, hình thái của các loài và các chủng VKL thay đổi đáng kể để đáp ứng với các điều kiện sinh trưởng thực tế (độ mềm dẻo kiểu hình) khiến việc phân định loại trở thành một nhiệm vụ đầy thách thức. Những hạn chế của các đặc điểm hình thái đã nêu bật yêu cầu về các phương pháp đáng tin cậy hơn (Kurmayer và cs., 2017). Trong vài thập kỷ gần đây, các phương pháp nhận loại hiện đại dựa vào những đặc điểm siêu cấu trúc (vị trí thylakoid, sự có hay vắng mặt của không bào khí), đặc điểm sinh hóa (cấu trúc và hàm lượng sắc tố; sản xuất axit béo và cấu hình hợp chất chuyển hóa thứ cấp) và đặc điểm phân tử (phát sinh loài của gen *16S rRNA*) đã trở thành những phương pháp phân loại quan trọng. Phân loại dựa trên sự kết hợp những đặc điểm về phân tử, sinh hóa, sinh lý, hình thái, sinh thái được gọi

là phương pháp phân loại đa pha (polyphasic taxonomy), trong đó đánh giá di truyền là cơ sở và được kết hợp với các đặc điểm phân loại khác từ phân tích hình thái, sinh lý và sinh thái (Chorus và Welker, 2021).

Hoffmann và cs. (2005a, b) đã giới thiệu một hệ thống phân loại VKL mới. Đây là hệ thống phân loại đầu tiên tiếp cận theo hướng đa pha dựa trên sự kết hợp các đặc điểm di truyền, đặc điểm siêu cấu trúc và dữ liêu kiểu hình trong phân loại. Trong hê thống này bốn phân lớp được đưa ra: Gloeobacteriophycidae, Synechococcophycidae, Oscillatoriophycidae và Nostochopycidae. Sư hiên diên hoặc vắng mặt thylakoit, sư sắp xếp của thylakoit và sự hiện diện của tế bào dị hình được sử dụng để phân chia các phân lớp. Phân lớp Gloeobacterophycidae chỉ bao gồm bộ Gloeobacterales được đặc trưng bởi thiếu thylakoid. Hai phân lớp Synechococcophycidae và Oscillatoriphycidae chứa cả dạng đơn bào và dạng sợi. Nhưng họ Synechococcophycidae (bao gồm cả Pseudabaenales) được đặc trưng bởi các thylakoid nằm song song với bề mặt tế bào, trong khi Oscillatoriphycidae được đặc trưng bởi sự sắp xếp xuyên tâm của các thylakoid. Tất cả các chi dị bào được kết hợp trong một phân lớp Nostocophycidae mà không có sự phân tách cổ điển của các loại nostocalean và stigonematalean. Tuy nhiên, theo ghi nhận của Hoffmann và cs. (2005), dữ liệu phân tử hiện có không phản ánh toàn bộ đa dạng sinh học của VKL và nhiều chủng xác định sai cũng cản trở việc giải thích cây phát sinh loài (Hoffmann và cs., 2005).

Để khắc phục những hạn chế trong hệ thống phân loại của Hoffmann và cs. (2005), toàn bộ hệ thống phân loại VKL (loài, chi, họ, bộ) đã được tái cấu trúc và sửa đổi trong hệ thống phân loại mới của Komárek và cs. (2014) dựa trên danh pháp nhị thức thực vật. Hệ thống này phần lớn dựa trên trình tự toàn bộ bộ gen, các đặc điểm siêu cấu trúc (sự phân bố của thylakoid) và những dữ liệu của nhiều cây phát sinh loài đã được công bố. Các đặc điểm cổ điển và hình thái học như sự hình thành các sợi hoặc sự hiện diện của các bao nhầy ít quan trọng hơn. Ví dụ, chi dạng sợi *Pseudanabaena* được nhóm lại cùng với chi Synechococcus đơn bào trong cùng một bộ Synechococcales. Tuy nhiện, hệ thống vẫn được trình bày dựa trên các chi truyền thống đã được mô tả hợp lệ và xác định về mặt hình thái. Đồng thời áp dụng phương pháp đa pha trong mọi trường hợp có sẵn dữ liệu phân tử, dữ liệu sinh hóa và sinh thái (Komárek và cs., 2014). Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng hệ thống phân loại của Komárek & Anagnostidis, 1999, 2005.

Bộ	Những đặc điểm hình thái	Họ
Chroococcales	Gồm những loài VKL đơn bào hoặc tập đoàn nhưng không phải dạng sợi. Không có tế bào dị hình và bào tử nghỉ. Sinh sản chủ yếu bằng hình thức phân đôi, tế bào phân chia ở một, hai hay nhiều mặt phẳng vuông góc. Bộ này gồm 11 họ và 93 chi.	Gloeobacteraceae, Synechococcaceae, Merismopediaceae, Chamaesiphonaceae, Microcystaceae, Chroococcaceae Entophysalidaceae, Hydrococcaceae, Dermocarpellaceae, Xenococcaceae, Hyellaceae.
Oscillatoriales	Gồm những loài VKL dạng sợi, đơn độc hay hình thành màng hoặc khối, trôi nổi tự do hoặc bám vào đài vật. Sợi không có nhánh thật, nhánh giả có hoặc không, có hay không có bao nhầy. Không có tế bào dị hình và bào tử nghỉ. Tế bào phân chia vuông góc với trục dài của mao tản. Tế bào đỉnh đôi lúc tròn, nhọn, cong, có mũ khi trưởng thành. Sinh sản sinh dưỡng bằng tảo đoạn (hormogonia). Bộ này gồm 6 họ và 34 chi.	Pseudanabaenaceae, schizotricha-ceae, Borziaceae, Phormidiaceae, Gomontiellaceae, Oscillatoriaceae.
Nostocales	Gồm những loài VKL dạng sợi, đôi khi có phân nhánh giả. Vì vậy, mao tản của bộ này luôn luôn cùng một dãy, không nhánh hoặc nhánh giả và sự phân chia tế bào vuông góc với trục dài mao tản. Bộ này gồm 4 họ và 26 chi.	Scytonemataceae,Microhaetaceae, Rivulariaceae, Nostocaceae
Stigonematales	Gồm những loài VKL dạng sợi, phân nhánh thật, có tế bào dị hình và bào tử nghỉ, sinh sản bằng hình thức tảo đoạn (hormogonia). Bộ này gồm 7 họ và 11 chi.	Capsosiraceae, Stigonemataceae, Fischerellaceae, Borzinemataceae, Loriellaceae, Nostochopsaceae, Mastigocladaceae.

Bảng 1.1. Hệ thống phân loại VKL theo Komárek & Anagnostidis 1999, 2005

_

1.2. Độc tố cylindrospermopsin

1.2.1. Cấu trúc hóa học

Cylindrospermopsin (CYN) là loại độc tố dạng vòng hepatotoxic. Độc tố này là một alkaloid với một trung tâm guanidine moiety ba vòng liên kết một nhóm sunfat và một hydroxymethyl uracil (Adamski và cs., 2020).



Hình 1.2. Cấu trúc của phân tử CYN: A - nhóm sunfat, B - guanidine moiety ba vòng, C - vòng uracil (Adamski và cs., 2020)

CYN có công thức phân tử là C₁₅H₂₁N₅O₇S và trọng lượng là 415,43 Dalton (U.S. Environmental Protection Agency, 2006). Nó là một ion lưỡng cực (Ohtani và cs., 1992). Bốn đồng phân của CYN trong tự nhiên đã được xác định: 7-epi cylindrospermopsin (7-epi-CYN), 7-deoxy-cylindrospermopsin (7-deoxy-CYN), 7-deoxydesulphocylin-drospermopsin và 7-deoxydesulpho-12-acetylcylindrospermopsin (Chorus và Welker, 2021). 7-Deoxy-CYN có thể được sản xuất bởi *R. raciborskii, R. curvata, R. mediterranea, L. wollei, Oscillatoria* sp. và *Pho. ambiguum*; 7-epi-CYN mới chỉ được phân lập với *Aph. ovalisporum* ILC-164 và *Oscillatoria* sp. PCC 6506 lần lượt đóng góp 10% và 68,6% vào tổng sản lượng độc tố. Hai đồng phân còn lại 7-deoxy-desulfo-CYN và 7-deoxy-desulfo-12-acetyl-CYN được xác định từ một chủng *R. raciborskii* của Thái Lan (Yang và cs., 2021).

1.2.2. Tính chất

CYN có dạng bột trắng, tan mạnh trong nước thành một dung dịch trong suốt. CYN cũng tan được trong dimethylsulfoxide và methanol. Không giống như độc tố microcystin (MC) dễ bị phân hủy quang học, CYN tương đối ổn định trong bóng tối và dưới tác động ánh sáng mặt trời. CYN có tính ổn định hóa học cao, bền vững trong nhiều điều kiện ánh sáng, nhiệt độ và pH khác nhau. Phần lớn độc tố CYN được giải phóng ra môi trường nước bên ngoài, tốc độ phân hủy CYN chậm dưới ảnh hưởng của các yếu tố phi sinh học trong tự nhiên (Mecaft và cs., 2014; Stefanova và cs., 2020). Vì vậy, chúng gây ra nhiều rủi ro tiềm ẩn và khó khăn trong việc sử dụng và quản lý nguồn nước.

1.2.3. Hàm lượng độc tố cylindrospermopsin trong các thủy vực trên thế giới

Nhóm nghiên cứu của Yang và cs. (2021) đã thu thập những dữ liệu định lượng về hàm lương độc tố CYN trong nước của 164 thủy vực ở sáu lục địa khác nhau trên thế giới. Những dữ liêu này cho thấy, CYN hiên diên phổ biến trong nguồn nước ở các thủy vực Châu Âu, Châu Á, Châu Đại Dương và Bắc Mỹ, với nồng đô trung bình lần lượt là 0,54 µg/L; 0,7 µg/L; 2,25 µg/L và 1,12 µg/L. Những dữ liệu về sự hiện diện của CYN trong các thủy vực ở Nam Mỹ và Châu Phi thì ít hơn. Tuy nhiên, nhóm tác giả cũng đã thống kê được nồng độ CYN trung bình ở Nam Mỹ và Châu Phi lần lượt là 2,5 µg/L và 2,35 µg/L. Tổng hàm lượng CYN (dạng hạt và hòa tan) cao nhất được báo cáo là 1050 µg/L từ nguồn cung cấp nước nông trai ở trung tâm Queensland và viêc tiêu thu nguồn nước này đã gây ra cái chết cho gia súc (Shaw et al., 2004). Humpage và Falconer (2003) đã đề xuất một nồng độ an toàn cho phép là 1 µg/L đối với nước uống để ngăn chăn tác dung không mong muốn của CYN khi sử dung. Từ những dữ liêu của nhóm nghiên cứu Yang và cs. (2021) cũng đã thống kê được các vùng nước có nồng đô CYN lớn hơn hoặc bằng 1 µg/L lần lượt chiếm 40,0%, 39,4%, 68,8%, 52,4%, 66,7% và 75% ở Châu Âu, Châu Á, Châu Đai Dương, Bắc Mỹ, Nam Mỹ và Châu Phi (Yang và cs., 2021). Thông qua các dữ liêu thống kê cho thấy, CYN hiện diện khá phổ biến trong nhiều thủy vực trên toàn cầu, đặc biệt là ở các thủy vực dùng làm nước uống. Qua đó, đã cho thấy các mối nguy hiểm đối với sức khỏe cộng đồng và cần phải có những chương trình đánh giá, giám sát liên tục và kiểm soát đầy đủ độc tố gây ô nhiễm này.

Bên cạnh đó, các nghiên cứu điều tra ngoài môi trường tự nhiên và trong phòng thí nghiệm còn cho thấy quá trình sản xuất CYN có thể bị ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường như: Nhiệt độ, ánh sáng và chất dinh dưỡng. Saker và Griffiths (2000) đã tìm thấy mối tương quan nghịch giữa khả năng tạo CYN của *R. raciborskii* và nhiệt độ. Ở 35 °C, tất cả các chủng phân lập đều phát triển tốt nhưng không có chủng nào

tạo ra CYN. Ngược lại, ở 20 °C, sự phát triển của các chủng là bị ngừng lại nhưng hàm lượng CYN tạo ra cao hơn. Tương tự, tổng hàm lượng CYN tạo ra từ *Chr. ovalisporum* thay đổi từ 1,56 - 2,24 µg/mg trọng lượng khô (DW) trong phạm vi 15 °C - 30 °C, nhưng gần như bị giảm hoàn toàn ở 35 °C (0,09 µg/mg DW), giảm khoảng 25 lần. Một cuộc khảo sát kéo dài một năm cũng cho thấy nhiệt độ có tương quan thuận đáng kể đến nồng độ CYN trong ao cá ở Ai Cập, với hệ số tương quan tương ứng là 0,80 và 0,88 đối với CYN dạng hạt và hòa tan (Yang và cs., 2021).

Bên canh nhiêt đô, cường đô ánh sáng cũng ảnh hưởng đến quá trình sản xuất CYN. Khi tiếp xúc ánh sáng với cường độ từ 15-340 µE/m/s, Chr. ovalisporum tạo ra tổng CYN nằm trong khoảng từ 1,32 µg/mg DW ở 340 µE/m/s đến 6,37 µg/mg DW ở 60 µE/m/s. Mặc dù có sự biến đổi 4 lần về hàm lượng CYN nhưng không có mối tương quan tuyến tính nào được quan sát thấy giữa hai thông số trên ở loài này (Cirés và cs, 2011). Ngược lại, cường đô ánh sáng cho thấy mối tượng quan thuận đáng kể với hàm lượng CYN được tạo ra trong môi trường nuôi cấy R. raciborskii. Nhiệt độ càng cao (18–140 µmol photon/m/s) càng làm tăng quá trình sản xuất CYN nôi bào (0–192 µg CYN/L/ngày) và ngoại bào (0,3–9,8 µg CYN/L/ngày) (Dyble và cs., 2006). Phần trăm CYN ngoai bào cao hơn cũng được quan sát thấy dưới cường đô ánh sáng cao hơn (Pierangelini và cs., 2015). Tương tự, Mohamed và Bakr (2018) cũng cho thấy mối tương quan thuận chặt chẽ giữa CYN nội bào và cường độ ánh sáng 440 - 4625 µmol photon/m/s. Những phát hiện này trái ngược với dữ liêu từ một cuộc khảo sát thực địa trong 21 hồ nước ở Đức, nơi mà khả năng sản xuất CYN nôi bào tương quan nghịch với bức xạ hoạt động quang hợp trung bình (PAR) và không có mối quan hệ nào giữa CYN ngoại bào và PAR được quan sát. Bên cạnh đó, mối quan hệ giữa khả năng tạo độc tố CYN với cường độ ánh sáng còn phụ thuộc vào nhiệt độ khi thí nghiệm bán liên tục trên các chủng Aph. flos-aquae. Ở 16 °C và 20 °C, CYN tăng đáng kể với sự gia tăng của cường độ ánh sáng từ 10 đến 60 μ E/m²/s, trong khi chúng giảm dần trong cùng môt gradient ánh sáng khi nhiệt đô 25 °C (Yang và cs., 2021).

Tác động của các chất dinh dưỡng, đặc biệt là phốt pho (P) và nitơ (N), đến khả năng sản xuất CYN đã được nghiên cứu rộng rãi. Bácsi và cs. (2006) đã cho thấy sự thiếu hụt P và sunfat (S) trong môi trường nuôi cấy *Chr. Ovalisporum* dẫn đến hàm

lượng CYN giảm lần lượt là 48% và 65% trong hai ngày. Khi P và S được bổ sung trở lại trong môi trường, mức độ độc tố bắt đầu tăng lên đáng kể. Những phát hiện này hoàn toàn phù hợp với quan sát của Burford và cs. (2014), họ đã phát hiện ra hàm lượng CYN nội bào cao hơn khi bổ sung P trong hồ chứa được trội bởi *R. raciborskii*. Ngược lại, khả năng tạo CYN được kích hoạt một cách đáng ngạc nhiên bởi sự thiếu hụt P ở *Aphanizomenon*, kết hợp với sự biểu hiện điều hòa của gen điều hòa PHO và gen sinh tổng hợp CYN. Hơn nữa, giới hạn P cũng thúc đẩy sự giải phóng và hạn chế sự tích tụ CYN trong các tế bào của *Aphanizomenon*. CYN được giải phóng tích cực từ các tế bào nguyên vẹn và hàm lượng CYN ngoại bào lần lượt chiếm 7,88% – 21,27% và 35,20% –96,48% khi bổ sung P và giới hạn P (Yang và cs., 2021).

1.2.4. Quá trình tổng hợp độc tố cylindrospermopsin

Cụm gen hoàn chỉnh (*cyr*) để tổng hợp CYN lần đầu tiên được giải trình tự từ *R*. *raciborskii* (Mihali và cs., 2008). Nó kéo dài 43 kb và mã hóa cho 15 khung đọc mở (ORF). Quá trình sinh tổng hợp bắt đầu với enzym amidinotransferase và được hoàn thành bởi enzym peptide synthetase hoặc enzyme polyketide synthase và các enzym điều chỉnh.

Quá trình sinh tổng hợp được bắt đầu thông qua việc chuyển nhóm guanidino từ arginine sang glycine được xúc tác bởi gen *CyrA* (*AoaA*) tao thành sản phẩm trung gian đầu tiên guanidinoacetate. Tiếp theo, gen CyrB (AoaB) là một tổ hợp lai NRPS/PKS nhân ra guanidinoacetate và xúc tác sư hình thành của di vòng chứa N. Bốn gen PKS, *CyrC* - *F* xúc tác thêm cho sư kéo dài của chuỗi polyketide tao ra cấu trúc ba vòng. *CyrG* và *CyrH*, tương đồng với cytosine deaminase, xúc tác hình thành của vòng uracil. Sau khi hình thành bộ khung carbon, các phản ứng điều chỉnh được xúc tác bởi CyrI, *CyrJ* và *CyrN* để sulfat hóa ở C12 và hydroxyl hóa ở C7. Adenylylsulfate kinase *CyrN* xúc tác sự hình thành 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate (PAPS), chất cho sulfate cho sulfo-transferase CyrJ. CyrJ sulfat hóa nhóm guanidine ba vòng tại C12 để tạo ra 7-deoxy-CYN. Cuối cùng, CyrI (oxygenase) xúc tác quá trình hydroxyl hóa C7 để tạo thành sản phẩm cuối cùng là CYN hoặc 7-epi-CYN. CyrK được giả thuyết là một chất vận chuyển CYN. Hai enzym vận chuyển *CyrL* và *CyrM* có thể chịu trách nhiệm vận chuyển theo chiều ngang của các gen cyr. CyrO có thể tham gia vào quá trình điều hòa phiên mã và liên kết ADN trong cum gen *cyr*. Ba loai protein này cùng nhau quyết đinh phần nào khả năng gây độc của các chủng (Yang và cs., 2021).

1.2.5. Độc tính của cylindrospermopsin

CYN đã được chứng minh là có độc tính đối với nhiều loài vi khuẩn, động vật nguyên sinh, thực vật, động vật không xương sống và động vật có xương sống bao gồm cả con người.

Cũng có bằng chứng cho thấy CYN có thể tích lũy sinh học ở nhiều cấp độ khác nhau trong chuỗi thức ăn. Cơ chế gây độc chủ yếu bằng cách ức chế sự tổng hợp protein, tương tác với cytochrome P450 (CYP450), gây ra stress oxy hóa và đứt gãy sợi DNA, liên kết với các thụ thể estrogen và ảnh hưởng đến hoạt động của acetylcholinesterase (AChE) (Yang và cs., 2021). Trên thế giới, đã có nhiều công trình nghiên cứu về độc tính của CYN lên sinh vật ở cấp độ cơ thể và cấp độ tế bào.

1.2.4.1. Độc tính đối với người

Khám phá đầu tiên về độc tố CYN theo sau một sự kiện nở hoa độc hại xảy ra ở Palm Island, Australia vào năm 1979 khi 148 người phải nhập viện với các triệu chứng ngộ độc thực phẩm, bao gồm nôn mửa và gan to mềm, sau khi uống nước từ hồ chứa địa phương (Xiao và cs., 2020). Về sau, có rất nhiều nghiên cứu tập trung đến sự tổn thương do CYN gây ra trên cơ thể người. Các nghiên cứu đi sâu vào sự tổn thương của hệ gen. Sự phân mảnh ADN, sự hình thành vi nhân và sự mất đoạn nhiễm sắc thể do CYN gây ra được quan sát thấy trong nhiều dòng tế bào khác nhau ở những nồng độ và thời gian tiếp xúc khác nhau. Ví dụ: dòng tế bào nguyên bào lympho ở người WIL2-NS tiếp xúc với nồng đồ 1-10 mg/mL trong 48 giờ; dòng tế bào Caco-2 tiếp xúc với 0,5-2 mg/mL trong 24 giờ; dòng tế bào u gan ở người HepG2 sau 12 giờ tiếp xúc với 0,5 mg/mL và 24 giờ với nồng độ thấp hơn 0,01; 0,05 và 0,1 mg/mL (Poniedziałek và cs., 2014b). Tiếp đến Štraser và cs. (2013a,b) đã phát hiện thấy chu kỳ tế bào bị ngừng lại, tăng cường tạo dạng oxi phản ứng ROS và phá vỡ ADN do stress không oxy hóa trong các tế bào u gan ở người HepG2 khi được xử lý với CYN (Yang và cs., 2021).

Ngoài độc tính tế bào và độc tính gen được đánh giá thường xuyên, CYN cũng thể hiện độc tính miễn dịch và độc tính nội tiết. Để hiểu rỏ hơn về những ảnh hưởng tiềm tàng của CYN đối với hệ thống miễn dịch của người, Zegura và cs. (2011a) đã chứng minh rằng khi phơi nhiễm CYN với nồng độ 0,5 mg/mL có thể làm thay đổi sự biểu hiện của các gen liên quan đến quá trình tự chết (BAX và BCL-2), phản ứng stress oxy hóa (GPX1,

GSR, GCLC và SOD1) và chuyển hóa độc tố trong các tế bào bạch cầu trung tính. Trái ngược với các cuộc điều tra của Zegura, trong nghiên cứu của Poniedziałek và cs. (2014a), CYN không gây ra quá trình chết tế bào hoặc hoại tử trong bạch cầu trung tính mà chỉ làm giảm khả năng chống nhiễm trùng thông qua việc giảm sản xuất oxi phản ứng ROS khi phơi nhiễm kéo dài 1 giờ ở nồng độ phù hợp. Trước đó, nhóm tác giả này cũng phát hiện khi phơi nhiễm với 1,0 mg/mL CYN sẽ ức chế phản ứng tăng sinh của tế bào lympho T đối với các phân tử trong 72 giờ nuôi cấy (Poniedziałek và cs., 2014a,b). Độc tính nội tiết của CYN cũng được phát hiện khi nghiên cứu trên tế bào hạt có nguồn gốc từ thụ tinh trong ống nghiệm (IVF) ở người. Sau 24 giờ tiếp xúc với 1 g/ml CYN đã ức chế việc sản xuất progesterone cơ bản (p <0,01). Tương tự, 6 giờ tiếp xúc với 1 g/ml CYN đã ức chế sản xuất progesterone và do đó có khả năng gây rối loạn nội tiết bằng cách thay đổi tỷ lệ progesterone: estrogen ở phụ nữ (Yang và cs., 2021).

1.2.4.2. Độc tính đối với động vật

Trường hợp tử vong đầu tiên do CYN gây ra trên động vật nuôi xảy ra ở Queensland vào năm 1997. Vào thời điểm đó, nước trong hồ đang bị nở hoa do loài *R. raciborskii* gây ra và nồng độ CYN được xác định là 4,1fg/tế bào. Tiếp theo đó là hai vụ ngộ độc riêng biệt đã được điều tra ở vùng trung tâm và vùng Tây Bắc Queensland, Úc liên quan đến tổng số 55 con bò. Các phát hiện sau khi khám nghiệm tử thi cho biết chúng đã nhiễm độc tố CYN khi uống phải nguồn nước trong trang trại tại thời điểm nở hoa của *R. raciborskii*. Hàm lượng CYN được xác định trong nguồn nước là rất cao 1050 µg/L, hàm lượng độc tố tích tụ trong trong dạ cỏ, gan và thận của gia súc lần lượt là 570 µg/kg, 7,4–51 µg/kg và 9,4–29 µg/kg ở trung tâm Queensland (Yang và cs., 2021).

CYN cũng gây ra các thay đổi bệnh lý ở cá Rô phi (*Oreochromis niloticus*) khi tiếp xúc với một liều uống duy nhất 400 µg/kg. Kết quả đã quan sát thấy sự tích tụ glycogen và lipid trong mô gan, viêm cầu thận và giãn ống thận, phù tim và xuất huyết, hoại tử tế bào ruột đường tiêu hóa và xuất huyết ở mang. Ngoài ra, CYN còn được phát hiện bằng ELISA trong não cá này khi tiếp xúc 14 ngày với nồng độ lặp lại (10 µg/L) trong môi trường có chứa CYN và deoxy-CYN. Tiếp theo đó, CYN cũng đã được tìm thấy trong não của cá Sói (*Hoplias malabaricus*) sau khi tiêm phúc mạc CYN tinh khiết

hoặc chiết xuất từ dòng *R. raciborskii* (50 µg/kg thể trọng) 7 tới 14 ngày. Các bất thường về sinh hóa và hình thái ở gan và não cũng được đưa ra (Yang và cs., 2021). Gần đây nhất, độc tính phát triển của CYN cũng đã được báo cáo trong phôi cá ngựa vằn. Khi tiếp xúc với CYN ở hàm lượng 2–2000 nM đã làm giảm tỷ lệ sống và nở của phôi trên đối tượng này, đồng thời gây ra các bất thường về hình thái, bao gồm phù màng ngoài tim, cong cột sống, biến dạng đuôi, các khuyết tật về tim và mạch máu (Wang và cs., 2020a, b). Bên cạnh đó, 91 con Bồ Nông đốm (*Pelecanus crispus*) chưa trưởng thành đã được tìm thấy đã chết trong khoảng thời gian một tháng tại hồ chứa Karla, Hy Lạp. Ba loại độc tố VKL là MCs, CYN và saxitoxin (STX) đã được phát hiện trong mô của loài chim này với hàm lượng CYN là 148,43 ng/g trong gan của chúng. Điều này cũng cho thấy rằng CYN cũng có khả năng phối hợp với các loại độc tố VKL khác gây ra hiện tượng chết hàng loạt (Papadimitriou và cs., 2018).

Để hiểu rõ hơn về cơ chế gây tử vong của CYN trên động vật, đã có rất nhiều nghiên cứu được tiến hành kiểm tra trên chuột trong phòng thí nghiệm. Nhiều nghiên cứu cho rằng các chất được chiết xuất từ tế bào có chứa CYN và CYN tinh khiết đều gây ra rối loạn chức năng gan và thận ở chuột sau khi tiêm qua đường phúc mạc hoặc uống qua đường miệng (Chernoff và cs., 2018; Moraes và Magalhães, 2018). Liều gây chết trung bình sau khi tiêm phúc mạc (LD50) của CYN tinh khiết ở chuột là 2,1 mg/kg và 0,2 mg/kg trong 24 giờ và 5–6 ngày. Moosova và cs. (2019) báo cáo rằng đại thực bào RAW 264.7 ở chuột là mục tiêu của CYN. Các đại thực bào được xử lý bằng độc tố CYN tinh khiết (1 mM) đã bị ảnh hưởng đáng kể đến việc sản xuất yếu tố hoại tử khối u trung gian tiền viêm a (TNF-a) (Moosova và cs., 2019). Độc tính thần kinh trên tế bào não chuột của CYN có thể liên quan đến sự mất tổ chức khung tế bào, stress oxy hóa và thay đổi hoạt động của acetylcholinesterase (Hinojosa và cs., 2019). *1.2.4.3. Độc tính đối với thực vật*

Tác dụng độc hại của CYN trên các loài động vật đã được nghiên cứu rộng rãi, nhưng có rất ít nghiên cứu tập trung vào ảnh hưởng của chúng đối với thực vật. CYN cũng tác động đến sự sinh trưởng thực vật. Tuy nhiên, các kết quả đạt được trong các nghiên cứu không đồng nhất, có thể ức chế hoặc kích thích sự tăng trưởng phụ thuộc vào nồng độ và thời gian tiếp xúc với CYN. Csaba và cs. (2015) khi nghiên cứu sự phơi nhiễm của hai loài cây thủy sinh *Lemna minor* và *Wolffia arrhiza* với CYN trong vòng 5 ngày, họ đã thấy quá trình tăng trưởng của *Lemna minor* giảm đáng kể được thể hiện qua số lượng lá khi tiếp xúc với CYN trong dịch chiết thô và CYN tinh chế ở nồng độ 1–20 µg/ml. Đối với *W. arrhiza*, CYN tinh khiết làm giảm đáng kể trọng lượng tươi ở khi tiếp xúc ở nồng độ 0,1 µg/ml; 10 µg/ml và 20 µg/ml. Trong khi đó, cả số lượng lá và trọng lượng tươi đều giảm đáng kể khi tiếp xúc với dịch chiết xuất thô ở nồng độ 10 µg/ml và 20 µg/ml (Flores-Rojas và cs., 2020). Tương tự, Marisa Freitas và cs. (2015) cho thấy rằng cây xà lách (*Lactuca sativa*) vẫn có thể sinh trưởng ổn định ở nồng độ 1 µg/L và 10 µg/L của CYN bằng cách đảm bảo duy trì và thậm chí tăng trọng lượng tươi, hàm lượng khoáng chất trong rễ. Tuy nhiên, khi tiếp xúc với hàm lượng 100 µg/L CYN dẫn đến giảm đáng kể trọng lượng tươi của lá và hàm lượng khoáng chất trong nó, điều này làm nổi bật tiềm năng tác động của độc tố này đối với năng suất và chất lượng dinh dưỡng của cây xà lách (Yang và cs., 2021).

Trái ngược với những kết quả trên, quá trình kích thích sự tăng trưởng rễ ở cây rau má dù (*Hydrocotyle verticillata*) khi tiếp xúc với 400 µg/L CYN đã được quan sát. Trong nghiên cứu của mình, Kinnear và cs. (2007) cũng đã cho thấy sự tăng sinh khối ở cây bèo đốm (*Landolti aunctata*) khi phơi nhiễm với 117 g/L của CYN. Bên cạnh đó, Flores-Rojas và cs. (2020) cũng cho thấy sự kích thích trọng lượng tươi và chiều dài chồi của cây thủy uẩn thảo (*Egeria densa*) trong vòng 14 ngày đầu khi tiếp xúc với 2,5 µg/L và 25 µg/L CYN (Flores-Rojas và cs., 2020).

1.2.4.4. Độc tính đối với động vật phù du

Độc tính của các loài VKL có khả năng tạo CYN và độc tính của CYN lên các loài động vật phù du (ĐVPD) nước ngọt không đồng nhất. Sự ức chế đáng kể đối với sự tăng trưởng và sinh sản cũng như giảm khả năng ăn thịt của ĐVPD đã được quan sát trong môi trường nuôi cấy mà khẩu phần ăn của chúng là thuần loài *R*. *raciborskii*, hoặc khi loài này chiếm tỷ lệ đáng kể trong khẩu phần ăn hỗn hợp (Soares và cs., 2010; Bednarska và Slusarczyk, 2013). Tương tự, Lei và cs. (2020) cho thấy sự phát triển và sống sót tuyệt vời của *Daphnia sienesis* khi trong khẩu phần ăn của chúng chỉ có tảo lục *C. pyrenoidosa*. Ngược lại, sự tăng trưởng của *D*.

sienesis giảm đáng kể và sự sinh sản hoàn toàn bị ức chế khi *M.aeruginosa và C.* raciborskiichiếm chiếm 100% trong khẩu phần ăn được cung cấp. Việc bổ sung *C.* pyrenoidosa vào khẩu phần ăn với hai loài VKL trên đã làm giảm đáng kể tác hại của chúng đối với loài *D. sienesis* (Lei và cs. 2020). Nhóm nghiên cứu của Nogueira (2004) cho thấy *R. raciborskii* có thể ảnh hưởng đến sự phát triển và khả năng tăng trưởng của con non *Daphnia magna*. Sau 48 giờ, tỷ lệ phần trăm sống sót của con non *D. magna* khi tiếp xúc với chủng Cylin-A (một chủng tạo CYN được phân lập từ Úc) và chủng Cylin-P (một chủng không tạo CYN được phân lập từ Bồ Đào Nha) lần lượt là 10 % và 93,3 %. Kết quả cho thấy chủng độc Cylin-A gây ra tỷ lệ chết rất cao trên con non *D. magna*. Trên cùng đối tượng *D. magna*, Dao và cs. (2017) cho thấy khi phơi nhiễm với chất chiết xuất thô từ *R. raciborskii* ở nồng độ 1 mg/L và 5 mg/L thì lại kích thích khả năng sinh sản và chỉ ảnh hưởng nhẹ đến khả năng sống sót của *D. magna*.

Trong khi đó, khi phơi nhiễm ở nồng độ 25 mg/L và 100 mg/L gây ra tỷ lệ chết cao trên đối tượng này (Dao và cs., 2017). Bên cạnh đó, chủng R. raciborskii trong nghiên cứu của Ferrao-Filho và cs. (2007) còn làm giảm hoạt động bơi lội ở Daphnia pulex do cơ chế hoạt động của các độc tố mà chúng tạo ra. Trái lại, các nghiên cứu ngoài thực địa và trong phòng thí nghiệm đều chỉ ra rằng một số loài đông vật phù du vẫn có thể phát triển và sinh sản trong nước có R. raciborskii (Soares và cs., 2010; Weithoff và cs., 2017). Ho thấy rằng, R. raciborskii ít gây hai cho Brachionus calicyflorus hon loài Microcystis aeruginosa. Hon nữa, kết quả này cũng phù hợp với các quan sát từ một hồ chứa nhiệt đới phú dưỡng, nơi quần xã ĐVPD (chủ yếu là sự phong phú của luân trùng) giảm trong thời kỳ Microcystis nở hoa và đa dạng hơn trong thời kỳ *Raphidiopsis* thống trị. Những quan sát này cho thấy rằng Raphidiopsis có thể ít gây bất lợi cho Brachionus hơn Microcystis. Các nghiên cứu về sự tương tác giữa ĐVPD và VKL thường tạo ra các kết quả không nhất quán hoặc thậm chí trái ngược nhau. Các nghiên cứu sâu hơn nên được tiến hành để đánh giá độc tính tiềm ẩn của các chủng VKL này đối với sự phát triển và sinh sản của ĐVPD.

1.3. Phương pháp xác định VKL có khả năng sinh độc tố CYN

Trên thế giới, đã có rất nhiều công trình công bố về nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN (Adamski và cs., 2020). Trong các công trình này, các loài VKL đã được phân lập, nuôi cấy, tiến hành xác định hàm lượng độc tố (nội bào và ngoại bào) và kiểm tra sự hiện diện nhóm gen tham gia vào quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập được. Nếu độc tố được xác định thấy trong các chủng phân lập của một loài thì có thể khẳng định loài này có khả năng sinh độc tố. Bên cạnh đó, sự có mặt của phân đoạn gen sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng phân lập là minh chứng chắc chắn hơn cho khả năng tạo độc tố CYN của loài đó. Phân lập, nuôi cấy, tiến hành xác định hàm lượng độc tố và kiểm tra sự hiện diện nhóm gen sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập được là cơ sở để xác định khả năng sinh độc tố CYN của một loài VKL trong thủy vực.

1.3.1. Nhóm gen tham gia quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN

Năm 2008, toàn bộ cụm gen *cyr* chịu trách nhiệm sinh tổng hợp độc tố CYN ở chủng *R. raciborskii* AWT205 lần đầu tiên được đề xuất bởi Mihali và cs. (2008) dựa trên công nghệ di chuyển gen, cụm gen *cyr* kéo dài 43 kb và chứa 15 khung đọc mở mã hóa tất cả các enzym cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp (*cyrA-J* và *cyrN*), quá trình điều hòa (*cyrL, cyrM* và *cyrO*) và quá trình bài tiết (*cyrK*) độc tố CYN. Cụm gen này bao gồm bốn gen *PKS* (*cyrC, cyrD, cyrE, cyrF*), một gen lai *PKS/NRPS* (*cyrB*), một số gen chịu trách nhiệm cho các phản ứng điều chỉnh (*cyrI, cyrJ, cyrN*) và các gen khác với chức năng cụ thể (*cyrA, cyrH, cyrK, cyrO*) (Mihali và cs., 2008).

Ba bước đầu tiên trong quá trình sinh tổng hợp CYN liên quan đến enzym amidinotransferase, enzym lai PKS/NRPS và enzym PKS. Ở *R. raciborskii* AWT205, ba khung đọc mở (ORF) này lần lượt được ký hiệu là *cyrA, cyrB, cyrC* và tương ứng với các gen *aoaA, aoaB* và *aoaC* trong chủng *Aph. ovalisporum* ILC-164 (Mihali và cs., 2008). Hai gen *PKS* (*cyrC*) và *PS* (*cyrB*) được chứng minh là 2 gen chính liên quan đến sự sản xuất độc tố CYN ở các loài VKL có khả năng sinh độc tố này. Sự hiện diện của 2 gen *PKS* (*cyrC*) và *PS* (*cyrB*) là bằng chứng đầy đủ để thăm dò và đánh giá khả năng sinh độc tố CYN của các loài VKL trên phương diện lý thuyết. Tuy nhiên, theo Schembri (2001) sự có mặt của 1 hoặc 2 gen này là đủ vì sự hiện diện đồng thời hoặc

vắng mặt một trong hai gen thì vẫn có khả năng sinh độc tố (Schembri và cs., 2001). Do đó, có thể sử dụng các gen này như chỉ thị phân tử để xác định sự hiện diện của các loài có khả năng sinh độc tố CYN trong các thủy vực.

Cho đến nay, trình tự hoàn chỉnh của cụm gen *cyr* từ một số chủng VKL độc đã được công bố: chủng *R. raciborskii* AWT205, CS-505, CS-506, CHAB3438, CHAB-358; *Aphanizomenon* sp. 10E6 (GQ385961.1); *Oscillatoria* sp. PCC 6506; *R. curvata* CHAB1150, CHAB114, HB1 và *R. mediterranea* FSS1-150/1 (Yang và cs., 2021). Sự tương đồng cao về trình tự và sự sắp xếp lại các gen trong các cụm gen *cyr* cho thấy các cụm gen này ở các loài khác nhau có thể tách ra từ một tổ tiên chung. Tuy nhiên, sự khác biệt về số lượng, trình tự và cách thức tổ chức trong cụm gen ở các chi khác nhau có thể dẫn đến sự thay đổi độc tính trong các chi này.

1.3.2. Phương pháp nhận dạng, phân loại VKL có khả năng sinh độc tố CYN

Phản ứng chuỗi polymerase (PCR) là phương pháp thường được sử dụng để sàng lọc nhanh VKL có khả năng sinh độc tố CYN. ADN của VKL được chiết xuất từ các mẫu môi trường hoặc mẫu nuôi cấy. Sau đó, cụm gen *cyr* được khuếch đại bằng cách sử dụng các đoạn mồi PCR đặc hiệu được thiết kế theo trình tự cụm gen *cyr* trong ngân hàng gen (GenBank). Sự xuất hiện của một amplicon dương tính khi điện di trên gel agarose cho thấy sự tồn tại của các loài VKL sản xuất CYN tiềm năng. Mặc dù, có nhiều gen tham gia vào quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN nhưng các gen *cyrA*, *cyrB*, *cyrC và cyrJ* được xem như những chỉ thị phân tử để phát hiện các mẫu dương tính với độc tố và được sử dụng phổ biến trong các nghiên cứu sàng lọc những loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN (Magonono và cs., 2018; Yang và cs., 2021; Cordeir và cs., 2021)

Bên cạnh đó, qPCR (quantitative real-time PCR) cũng có thể được sử dụng trong quá trình này, dựa trên giả định rằng số lượng bản sao của gen sinh tổng hợp CYN phản ánh độc tính của loài. Chiu và cs. (2017) đã so sánh tương quan giữa các gen *rpoC1* và gen *cyrC* với mật độ tế bào *Raphidiopsis* và nồng độ CYN để đánh giá tỷ lệ các loài sinh độc tố tiềm ẩn trong quần thể *Raphidiopsis* trong tự nhiên, chứng minh giá trị của qPCR trong việc định lượng VKL mục tiêu và gen độc tố (Yang và cs., 2021).

Trong những năm gần đây, đo lường và giải trình tự thế hệ tiếp theo (NGS) đã mở ra những con đường mới để theo dõi VKL gây độc và dự đoán động thái của những độc tố VKL. Sự phong phú tương đối của các trình tự gen liên quan đến VKL và quá trình sinh tổng hợp độc tố VKL được thu thập sau khi thu mẫu, chiết xuất ADN, xây dựng thư viện ADN, giải trình tự gen và phân tích dữ liệu (Walter và cs., 2018). Dựa trên metabarcoding của gen *16S rRNA* và những gen sinh tổng hợp độc tố VKL (*anaF, cyrJ, mcyE* và *sxtI* cho *ATX, CYN, MCs* và *STX*), NGS mô tả các đơn vị phân loại của VKL và VKL tạo độc tố (Casero và cs., 2019). Ngoài ra, NGS cho thấy sự vượt trội rõ rệt trong việc giám sát các đơn vị phân loại có mức độ phong phú thấp mà hầu như không thể phát hiện được bằng cách kiểm tra bằng kính hiển vi.

Trong phân loại VKL nói chung và VKL có khả năng sinh độc tố CYN nói riêng, những hạn chế trong phương pháp so sánh hình thái đã nêu bật yêu cầu về các phương pháp đáng tin cậy hơn và thúc đẩy sự tiếp cận phương pháp phân tử trong phân loại VKL độc. Các gen ribosome như: *16s rARN*, *16S-23S ITS* và một số gen protein (*rpo*, *rbc*, *psb* và *cpcBA-IGS*) được sử dụng phổ biến trong nhận dạng, phân loại các loài VKL độc. Bên cạnh đó, dựa vào dữ liệu phân tử một số đơn vị phân loại VKL cổ điển đã được sửa đổi và đổi tên để phù hợp với mối quan hệ trong cây phát sinh loài (Chorus và Welker, 2021).

Dựa vào trình tự gen *16S rRNA* và sự vắng mặt của các thể khí, nhóm phân tử của các loài phù du thuộc chi *Anabaena* đã được phân loại lại thành chi mới *Dolichospermum*. Hơn nữa, một số loài hình thái khác theo truyền thống được phân loại là *Anabaena*, nay hình thành nhóm di truyền riêng biệt là *Sphaerospermopsis* dựa vào phân tích trình tự gen *16S rRNA* (Komarek, 2016). McGregor và cs. (2015) cũng cho thấy sự tương đồng cao về trình tự theo cặp trong nhánh *16S rRNA* của tất cả mười một chủng *Lyngbya wollei*, dao động từ 97-100%. Nhóm này có quan hệ họ hàng xa (độ tương đồng <92% nucleotide) với các đơn vị phân loại khác thuộc chi *Lyngbya* (C. Agardh ex Gomont) trước đây. Những kết quả này gợi ý rằng nhóm độc tố này khác biệt về mặt tiến hóa và đủ xa để được tách thành một chi riêng biệt. Chi này được nhóm tác giả mô tả dưới tên *Microseira*. nov. và do đó *Lyngbya wollei* đổi tên thành *Microseira wollei* (McGregor và cs., 2015). Dựa trên trình tự *16S rRNA*, *16S-23S ITS* và *cpcBA-IGS*, đặc điểm siêu cấu trúc, sinh lý, hình thái, Aguilera và cs. (2018) cho thấy hai chi *Raphidiopsis* và *Cylindrospermopsis* tạo nên

một dòng đơn ngành trong tất cả các quá trình tái tạo phát sinh loài. Hơn nữa, một số nghiên cứu phát sinh loài dựa trên nhiều gen (*16S rRNA, psbA, rbcL, rbcS, cpcB*) và cấu trúc gen thứ cấp (*16S-23S ITS*) đã chứng minh rằng các loài trong chi *Raphidiopsis* và *Cylindrospermopsis* là một nhóm đa thể cần được sửa đổi (Komarek, 2013; Li và cs., 2016). Vì vậy nhóm tác giả đã đề xuất hợp nhất hai chi dưới tên *Raphidiopsis* theo nguyên tắc ưu tiên (Aguilera và cs., 2018).

1.3.3. Phương pháp xác định độc tố CYN

1.3.3.1. Phương pháp miễn dịch

Phương pháp hấp thụ miễn dịch enzym liên kết (ELISA) là phương pháp đầy triển vọng do độ nhạy, tính đặc hiệu và dễ thao tác. Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào tính đặc hiệu kháng nguyên - kháng thể. ELISA cạnh tranh trực tiếp là kỹ thuật ELISA rất hiệu quả cho định lượng các yếu tố hiện diện trong mẫu với lượng nhỏ. Kỹ thuật này định lượng CYN dựa vào các kháng thể đặc hiệu. ELISA cạnh tranh sử dụng một lượng kháng nguyên liên kết enzym (CYN-HRP, kháng nguyên cạnh tranh) cùng loại với kháng nguyên CYN mà ta muốn định lượng trong mẫu cho phản ứng cạnh tranh với cùng một loại kháng kháng thể CYN của thỏ (rabbit anti-CYN antibodies) có trong dung dịch. Một số bộ kít ELISA có sẵn trên thị trường để phát hiện CYN trong khoảng nồng độ 0,05-2 μ g/L đã được phát triển và có sẵn trên thị trường với một vi tấm gồm 96 giếng (Abraxis LLC, Warminster, PA, USA và Beacon Analytical Systems, Inc., Sacoo ME, USA).

1.3.3.2. Phương pháp hóa học

Sắc ký lỏng (LC) là một phương pháp hiệu quả để phân tách và định lượng độc tố CYN với độ chính xác và độ đặc hiệu cao. Các ứng dụng phổ biến nhất của sắc ký lỏng là sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sắc ký lỏng siêu hiệu suất (UPLC) và sắc ký lỏng kết hợp với khối phổ (LC-MS hoặc LC-MS/MS). UPLC mang lại một lợi thế đáng kể so với HPLC thông thường vì nó cho phép tách rất nhanh các chất phân tích (thời gian chạy khoảng 10 phút) và giảm đáng kể việc sử dụng dung môi, thường là 0,3 mL/phút so với 1 mL/phút cho các hệ thống HPLC thông thường.

Việc bổ sung một đầu dò khối phổ (MS) vào các hệ thống sắc ký (LC) làm chúng trở thành một công cụ rất mạnh trong phân tích độc tố VKL. Khối phổ có thể cung cấp chỉ báo về thành phần nguyên tố và cấu trúc của chất phân tích cùng với việc xác định lượng chất phân tích mà vật liệu chuẩn có sẵn với độ nhạy cao. Các kỹ thuật sắc ký bị hạn chế bởi các quy trình tiền xử lý rườm rà và thiếu các chất chuẩn cho các đồng phân CYN. MS là kỹ thuật duy nhất phân biệt và định lượng rõ ràng các đồng phân này (Yang và cs., 2021), một lợi thế đáng kể so với ELISA. Các hệ thống LC-MS/MS phức tạp hơn, kết hợp nhiều hơn một đầu dò khối phổ. Khi các ion của chất phân tích đi qua máy phân tích khối phổ, thiết bị đầu tiên cho phép lựa chọn chất phân tích dựa trên khối lượng ion mẹ, trong khi thiết bị thứ hai cho phép phát hiện chọn lọc các ion phân đoạn. Điều này làm cho LC-MS/MS trở thành một kỹ thuật phân tích có độ đặc hiệu cao. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã áp dụng thành công các phương pháp này trong việc xác định độc tố CYN.

1.4. Tình hình nghiên cứu về độc tố CYN và các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trên thế giới và ở Việt Nam

1.4.1. Trên thế giới

CYN là một trong những độc tố VKL phân bố rộng rãi trong các châu lục trên toàn cầu. Cho đến nay, nhiều loài VKL bản địa và ngoại lai thuộc bộ Nostocales và bộ Oscillatoriales đã được chứng minh có khả năng sinh độc tố CYN như: *Anabaena lapponica* Borge; *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet & Flahault; *Aphanizomenon gracile* Lemmermann; *Chrysosporum bergii* (Ostenfeld) E. Zapomelova, O. Skacelova, P. Pumann, R. Kopp & E. Janecek (Syn. *Anabaena bergii* Ostenfeld); *Chrysosporum ovalisporum* (Forti) E. Zapomelova, O. Skacelova, P. Pumann, R. Kopp & E. Janecek (Syn. *Anabaena bergii* Ostenfeld); *Chrysosporum ovalisporum* (Forti) E. Zapomelova, O. Skacelova, P. Pumann, R. Kopp & E. Janecek (Syn. *Aphanizomenon ovalisporum* Forti); *Dolichospermum mendotae* (W. Trelease) Wacklin, L. Hoffmann & Komarek; *Dolichospermum planctonicum* (Brunnthaler); *Raphidiopsis curvata* F. E. Fritsch & M. F. Rich; *Raphidiopsis mediterranea* Skuja; *Microseira wollei* (Farlow ex Gomont) G. B. McGregor & Sendall ex Kenins (Syn. *Lyngbya wollei* (Farlow ex Gomont) Speziale & Dyck); *Oscillatoria* sp. PCC6506; *Umezakia natans*. M. Watanabe

(Adamskii và cs., 2020) và *Phormidium ambiguum* Gomont (Gaget và cs., 2017a). Một đề xuất tập trung vào *Aphanizomenon klebahnii* Elenkin ex Pechar với tư cách là nhà sản xuất CYN giả định cũng đã được công bố và gần đây *Anabaena affinis, Planktothrix agardhii, Cylindrospermopsis catemaco* và *Cylindrospermopsis philippinensis* lần đầu tiên được xác định tạo độc tố CYN (Mohamed và Bakr, 2018). Bên cạnh các loài nêu trên, một số loài tạo CYN tiềm năng khác chỉ được xác định ở cấp độ chi như *Aphanizomenon* sp.; *Anabaena* sp. (Stefanova và cs., 2020). Gần đây, khi tiến hành sàng lọc độc tố từ 157 chủng VKL trong bộ sưu tập của ngân hàng tảo và VKL Azorean (BACA), Cordeiro và cs. (2021) đã xác định được hai chủng BACA0025 và BACA0031 là đơn vị phân loại VKL mới tạo CYN bằng phân tích phát sinh loài. Nhóm tác giả cho rằng, các nghiên cứu sâu hơn là cần thiết để xác nhận và mô tả các đơn vị phân loại mới này với đặc điểm hình thái học, phân tích *16S rRNA* và *ITS* (Cordeiro và cs., 2021).

Những loài VKL sinh độc tố CYN có sự phân bố theo các vùng địa lý khác nhau. Bên cạnh đó, các chủng độc và không độc thường tồn tại trong cùng quần thể. Cho đến nay, chỉ có các chủng *R. raciborskii* ở Úc, New Zealand và Châu Á được phát hiện là có thể tạo ra CYN. Trong khi không có chủng *R. raciborskii* nào từ Bắc và Nam Mỹ, Châu Phi và Châu Âu tổng hợp CYNs (Burford và cs., 2016, 2019). *Chrysosporum ovalisporum* tạo CYN đã được báo cáo từ các chủng hoặc trong các mẫu môi trường ở Úc, Florida, Thổ Nhĩ Kỳ, Israel và Tây Ban Nha. Ở Trung và Bắc Âu, sự xuất hiện CYN phần lớn được cho là do sự hiện diện của *Aphanizomenon* sp. và *Dolichospermum* spp. (Kokociński và cs., 2013).

Trong các thủy vực tự nhiên, có thể còn xuất hiện nhiều loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN chưa được phát hiện. Việc sử dụng phương pháp phân tử để sàng lọc các loài VKL này là cơ sở để đảm bảo an toàn nguồn nước. Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu điều tra phân tử - di truyền để chứng minh khả năng tạo CYN trong các loài VKL tiềm năng. Các nghiên cứu trước đây cho rằng VKL tạo độc tố CYN phải có các gen tương đồng của *cyrA, cyrB* và *cyrC* để sản xuất độc tố (Tawong và cs., 2019). Năm 2001, Schembri và cs. đã sử dụng hai cặp mồi đặc hiệu M4, M5 và M13, M14 để xác định gen tổng hợp CYN và ông đã khuếch đại thành công hai phân đoạn gen *PS* (*cyrB*) và *PKS* (*cyrC*) từ hai chủng VKL độc *R. raciborskii* AWT205 và

CYP020B bằng kỹ thuật PCR (Schembri và cs., 2001). Bên cạnh đó, hai cặp mồi còn được Bittencourt-Oliveira và cs. (2011) sử dung để khẳng đinh khả năng gây độc của một số loài VKL độc tiềm năng xuất hiện trong các mẫu nước chứa độc tố CYN. Kết quả cho thấy cả hai phân đoạn gen cyrB và cyrC đều hiện diện trong tất cả các mẫu nước môi trường có chứa độc tố CYN và các loài VKL độc tiềm năng (Bittencourt-Oliveira và cs., 2011). Để xác định các loài VKL có khả năng sinh độc CYN trong 10 hồ chứa nước Đông bắc Brazil, Lorenzi và cs. (2015) đã sử hai cặp mồi của Schembri và thấy rằng CYN chỉ được phát hiện trong các mẫu nước chứa cả hai phân đoạn gen cyrB và cyrC (Lorenzi và cs., 2015). Tương tự, cặp mồi M13 và M14 cũng được sử dụng để xác định sự hiện diện của các gen chứa protein sản xuất độc tố CYN trong trầm tích của lưu vực sông Limpopo. Kết quả cho thấy rằng phân đoạn gen cyrB chỉ xuất hiện trong mẫu trầm tích có độc tố CYN và loài R. raciborskii (Magonono và cs., 2018). Cordeir và cs. (2021) cũng sử dụng hai cặp mồi này để sàng lọc các chủng sinh độc tố CYN trong một bộ sưu tập nuôi cấy gồm 157 chủng tảo. Kết quả đã sàng lọc được hai chủng (BACA0025 và BACA0031) đều chứa cả hai phân đoạn gen cyrB và cyrC và có độc tố khi kiểm tra bằng ESI-LC-MS/MS (Cordeir và cs., 2021). Các gen *cyrB* và *cyrC* đã trở thành chỉ thị để thăm dò, kiểm soát các loài VKL sinh độc tố CYN trong các nguồn nước một cách nhanh chóng và chính xác.

Sự phát triển và sự chiếm ưu thế của VKL bị ảnh hưởng bởi các các yếu tố vật lý, hóa học và sinh học trong các thủy vực. Một trong những thách thức chính khi quản lý sự nở hoa của nhóm loài VKL độc hại là tính linh hoạt cao của chúng khi phản ứng với các yếu tố môi trường. Tính linh hoạt này có thể là do sự thích nghi sinh lý và tính mềm dẻo kiểu hình (sự biến đổi trong các chủng), sự biến đổi di truyền giữa các chủng và sự thích nghi về mặt tiến hóa. Vì vậy, hiểu và dự đoán được sự biến động quần thể dưới tác động của các yếu tố môi trường là cơ sở để giám sát, kiểm soát hiện tượng nở hoa VKL độc hại và đảm bảo an ninh nguồn nước. Trên thế giới, nhiều loài VKL được xác định tạo CYN nhưng những nghiên cứu sinh thái về nhóm loài này còn hạn chế. Các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào những loài ngoại lai xâm hại, gây nở hoa phổ biến trong các thủy vực dạng hồ trên thế giới như: *Raphidiopsis raciborskii* và *Chrysosporum ovalisporum (Aphanizomenon ovalis-porum*).
Chrysosporum ovalisporum (Aphanizomenon ovalisporum) là một loài VKL được coi là có khả năng xâm hại vì có khả năng thích nghi sinh thái cao trong điều kiện môi trường thay đổi. Nở hoa lần đầu được mô tả từ Hồ Kinneret, Israel vào năm 1994, sự nở hoa tiếp đó được báo cáo trong các hồ và hồ chứa ở Lebanon, Thổ Nhĩ Kỳ, Hy Lap, Ý và Tây Ban Nha. C. ovalisporum cũng đã được tìm thấy ở Florida và ở Tanzania, Đông Phi. Ở Úc, nở hoa đã xảy ra ở các hồ đô thị nhỏ ở Đông Nam Queensland, Đông Bắc NSW và sông Murray (Cire's và cs., 2016; Bowling và cs., 2018). Trừ một số trường hợp ngoại lê, đa số sự nở hoa xảy ra ở nhiệt độ nước trên 25 °C trong các vùng nước có đô măn từ thấp đến trung bình (đô dẫn điên từ 350 đến 3550 μS cm⁻¹), độ trong suốt của nước từ thấp đến trung bình (độ sâu đĩa Secchi từ 0,2 đến 2,5 m) và ở các vùng nước có tính kiềm nhẹ đến vừa phải với các giá trị pH từ 7.2 đến 9,0. Sự nở hoa có thể xảy ra ở cả các thủy vực phân tầng sâu và trong các ao nông. Ngoài ra, một số trường hợp nở hoa đã được báo cáo từ các vùng biển có hàm lượng nito và phốt pho cao, trong khi những vùng khác nở hoa xảy ra ở nơi các hàm lương chất dinh dưỡng hòa tan có thể thiếu. Điều này có lẻ do khả năng cố đinh nito trong khí quyển của loài mang lại một thuận lợi ở các vùng nước thiếu nito và cơ chế để thu được phốt pho một cách hiệu quả, cho phép nó phát triển trong điều kiên hàm lương phốt pho vô cơ thấp (Bowling và cs., 2018).

Các nghiên cứu sinh lý trong phòng thí nghiệm chỉ ra rằng *C. ovalisporum* có tốc độ phát triển tối ưu ở nhiệt độ nước 26-30 °C, trong khi Cire's và cs. (2011) cho thấy tốc độ tăng trưởng dương ở nhiệt độ từ 15 °C đến 35 °C. *C. ovalisporum* cũng phát triển tốt nhất ở cường độ ánh sáng thấp đến trung bình. Ngoài ra, *C. ovalisporum* sử dụng bicarbonat như một nguồn carbon, cho phép nó duy trì tốc độ quang hợp cao ở độ pH cao và nồng độ carbon dioxide hòa tan thấp (Hadas và cs., 2015). Đa số các trường hợp nở hoa được báo cáo cho đến nay đều tạo ra CYN, mặc dù các chủng không độc đã được phân lập từ hồ Kinneret và hồ ở Tanzania cũng như như từ các hồ đô thị ở Adelaide, Nam Úc (Cire's và Ballot, 2016; Bowling và cs., 2018).

Bên cạnh *C. ovalisporum*, *R. raciborskii* cũng được xếp vào danh sách loài VKL gây hại phổ biến. Sự chiếm ưu thế của *R. raciborskii* trên toàn cầu một mặt vì tính mềm dẻo kiểu hình khi phản ứng với các yếu tố môi trường chủ đạo như nhiệt độ, ánh sáng,

chất dinh dưỡng. Mặt khác, sự xuất hiện và đồng tồn tại của các chủng (các kiểu sinh thái trong một loài) bên trong và giữa các quần thể dẫn đến những thay đổi lớn trong loài khi phản ứng tăng trưởng với các điều kiện môi trường (Willis và cs., 2016; Xiao và cs., 2017a). Các chủng khác nhau về hình thái, sinh lý, độc tố và di truyền (Abreu và cs., 2018; Willis và cs., 2018; Xiao và cs., 2017a). Các chủng Nam Mỹ sản xuất saxitoxin, chủng Úc và châu Á sản xuất CYN, trong khi các chủng Châu Âu và Bắc Mỹ không tao độc (Burford và cs., 2016). Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng các chủng R. raciborskii được phân lập từ một hồ duy nhất có thể thay đổi đáng kể về các thuộc tính hình thái và sinh lý nhằm tăng cường tiềm năng của quần thể để thích nghi nhanh chóng với các điều kiện môi trường thay đổi (Willis và cs., 2016a, Xiao và cs., 2017a, Willis và cs., 2018). Willis và cs. (2016a) phát hiện ra 24 chủng R. raciborskii (17 chủng dang thẳng và 7 chủng dang cuôn) được phân lập từ một mẫu nước bề mặt, nuội trong cùng điều kiên môi trường, cho thấy rằng mỗi chủng phân lập có sư khác biệt về tốc đô tăng trưởng (từ 0,10-0,21/ngày), hàm lương độc tố nội bào (90,9-278,9 fg CYN/tb) và thể tích tế bào (32,5 -262,9 mm³/tb). Thâm chí, những thay đổi lớn cũng xảy ra đối với cùng một chủng được phân lập từ cùng một vùng nước khi sinh trưởng trong các điều kiên khác nhau ở các phòng thí nghiêm khác nhau trên chủng R. raciborskii LETC CIRF-01.

Bên cạnh đó, Xiao và cs. (2017) cũng cho thấy các chủng *R. raciborskii* dạng thẳng có nhiều biến đổi hơn so với các chủng dạng cuộn về tốc độ tăng trưởng và thể tích tế bào (các chủng sợi thẳng thay đổi 4,6 và 6,6 lần, trong khi dạng cuộn chỉ 2,4 và 3,1 lần) cho thấy khả năng phân hóa thành các loài phụ (Xiao và cs., 2017). Baxter và cs. (2020) nghiên cứu trên 12 chủng *R. raciborskii* được phân lập từ Châu Phi, Châu Úc và Châu Âu để xác định các kiểu sinh thái dựa trên sự khác biệt hình thái, sinh lý và di truyền. Ba kiểu sinh thái chính được xác định trong nghiên cứu: kiểu 1 được đặc trưng bởi tốc độ tăng trưởng cao và số lượng dị bào cao, kiểu 2 gồm các chủng không độc hại và tỷ lệ tăng trưởng NF thấp và kiểu 3 là các chủng có tỷ lệ tăng trưởng NF cao và khối lượng sinh học cao. Các chủng được tập hợp trong mỗi kiểu sinh thái không tương quan với nguồn gốc địa lý của các chủng, điều này cho thấy rằng các kiểu sinh thái được hình thành trong các quần thể. Hiểu được các kiểu sinh thái chính sẽ góp phần quản lý khả năng xâm lấn của *R. raciborskii* tưrớc sự thay đổi khí hậu (Baxter và cs., 2020).

Tính linh động khi đáp ứng với chất dinh dưỡng sẵn có trong các loài đã mở rộng ổ sinh thái của R. raciborskii. Chúng đã thích nghi với mức độ biến động cao đối với các chất dinh dưỡng nitơ và phốt pho. Một yếu tố chính thúc đẩy sự chiếm ưu thế của R. raciborskii là khả năng thích nghi với hàm lượng phốt pho sẵn có thấp hoặc thay đổi (Burford và cs., 2016). Nghiên cứu thực địa và thử nghiệm cho thấy cả mối tương quan thuân và tương quan nghịch giữa nồng độ phốt pho và mật độ tế bào R. raciborskii (Kokociński và cs., 2017; Aguilera và cs., 2017). Trong tư nhiên, quần thể *R. raciborskii* ưu tiên phát triển hơn các loài khác khi bổ sung phốt pho hàng ngày (Muhid và cs., 2013). Trong khi đó, Kokocinski và cs. (2017) thấy rằng quần thể này vẫn phát triển trong môi trường có hàm lương phốt pho thấp. Trong nhiều hồ ở Úc, phốt pho thường được tìm thấy ở nồng độ rất thấp và được coi là chất dinh dưỡng giới hạn. Tuy nhiên, R. raciborskii vẫn có thể hình thành nở hoa khi nồng độ phốt pho thường gần hoặc thấp hơn giới hạn phát hiện, đó là kết quả của khả năng hấp thu và lưu giữ P vươt trôi của nó (Burford và cs., 2016, 2018). Phốt pho ảnh hưởng không đáng kể đến sư tăng trưởng của chủng R. raciborskii CR12 thể hiên qua sư thay đổi thấp về tốc đô tăng trưởng khi tăng hoặc giảm nồng độ phốt pho (Mohamed Nor và cs., 2019). Tương tự, Willis và cs. (2017) không quan sát thấy bất kỳ sư khác biệt đáng kể nào về tốc đô tăng trưởng khi nồng đô phốt pho được tăng lên đối với các chủng R. raciborskii AWT205 và NPD ở Úc (Willis và cs., 2017). Qua đó ta thấy rằng loài này có thể sinh trưởng trong khoảng phốt pho rông lớn. Các nghiên cứu thực địa đã chỉ ra những thay đổi về ưu thế của các chủng trong một quần thể dưới các phương pháp xử lý phốt pho khác nhau dẫn đến hàm lượng độc tố khác nhau (Burford và cs., 2014). Điều này ngụ ý rằng các quần thể R. raciborskii có thể hoạt động khác nhau tùy thuộc vào các chủng hiện có trong quần thể và do đó, hiểu được sự khác biệt giữa các chủng là rất quan trọng để hiểu được phạm vi phản ứng của loài. R. raciborskii sở hữu ái lực hấp thụ và khả năng dư trữ DIP cao (Willis và cs., 2017). Bên canh đó, khả năng tìm kiểm và sử dung phốt pho hữu cơ hòa tan (DOP) cũng đã được chứng minh trong các nghiên cứu thực đia (Prentice và cs., 2019). Khi có đầy đủ phốt pho, R. raciborskii ưu tiên dư trữ phốt pho nôi bào hơn là dùng để tăng tốc đô sinh trưởng. Đây được xem như một chiến lược để duy trì bền vững quần thể trong môi trường thiếu phốt pho. Điều này chỉ ra khó khăn trong việc kiểm soát sự phát triển của *R. raciborskii* bằng chiến lược giảm phốt pho.

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng R. raciborskii ưa thích sử dụng nguồn nitơ vô cơ (amoni, nitrat) và nitơ hữu cơ (urê) hòa tan hơn sư cố đinh nitơ với sư ưu tiên rõ ràng đối với amoni dựa trên cả tỷ lệ tăng trưởng và tốc độ hấp thụ (Burford và cs., 2016, 2018). Môt số nghiên cứu đã chỉ ra rằng sinh khối của R. raciborskii trong điều kiên có đầy đủ nitơ cao hơn 20-50 lần so với trong điều kiên thiếu nitơ và tốc đô phát triển của R. raciborskii tăng lên theo nồng độ nitơ (Yema và cs., 2016). Mặc dù tỷ lệ cố định N₂ của *R. raciborskii* thấp hơn tỷ lệ hấp thụ amoni và nitrat và chiếm ít hơn 10% tổng số N đồng hóa của sinh vật này nhưng quá trình cố định N₂ của R. raciborskii đóng một vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh sự thích nghi sinh lý trong môi trường nito dao động. Điều này được thấy trong nghiên cứu của Willis và cs. (2016a) khi sự cố định N2 cung cấp một nguồn nitơ cần thiết để hỗ trợ duy trì quần thể ở mức phát triển tương đối thấp và cân bằng nội môi tế bào trong điều kiện giới hạn nitơ kéo dài (Willis và cs., 2016a). Tương tự, Burford và cs. (2018) nhấn mạnh rằng sư hình thành nở hoa rất có thể xảy ra trong các hê thống có đủ nitơ hòa tan thích hợp, sự cố định nitơ chỉ xảy ra nếu giới han nitơ hòa tan kéo dài và chỉ được sử dụng như một cơ chế duy trì tế bào. Sở dĩ như vậy có lẻ vì quá trình biệt hóa tạo tế bào di hình và quá trình cố đinh nito tiêu tốn nhiều năng lương. Vì vây, ưu tiên sử dung của các dang nito hòa tan, đặc biệt là trong điều kiện ánh sáng thấp là một chiến lược hiệu quả. Trong môi trường có đầy đủ nguồn nito hòa tan thì loài này vẫn ưu tiên sử dụng nito hòa tan hơn dạng cố định nitơ.

Nhiệt độ nước và điều kiện ánh sáng trong khu vực là những yếu tố quan trọng thúc đẩy sự phân bố của *R. raciborskii* (Bonilla và cs., 2016). Ban đầu *R. raciborskii* được coi là một loài nhiệt đới nhưng cho đến nay, loài này đã xâm nhập thành công sang các vùng cận nhiệt đới đến ôn đới. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng nhiệt độ nước tối ưu cho sự sinh trưởng dao động từ 25 °C đến 35 °C. Nhiệt độ nở hoa phổ biến thường lớn hơn 25 °C (Kokocinski và cs., 2017; Jia và cs., 2020). Tuy nhiên, sự nở hoa cũng xuất hiện tại nhiệt độ thấp trong các hồ nhiệt đới (13 °C - 20 °C), cận nhiệt đới (11 °C) (Jia và cs., 2021). Thậm chí, sự nở hoa của chúng đã được quan sát

thấy vào mùa đông ở các hồ và đập ở Bắc Đài Loan; Lago Javier, Uruguay và Rio Grande do Sul, Nam Brasil khi nhiệt độ lần lượt là 16,3 °C; 11,2 °C và 11 °C (Yamamoto và cs., 2016; Wener và cs., 2020). Khả năng chịu đựng với nhiệt độ thấp tạo điều kiện thuận lợi cho loài này phát triển mạnh vào mùa đông. Gần đây, Dokulil (2016) cũng chỉ ra rằng R. raciborskii phát triển ở nhiệt độ 8 °C-13 °C với sinh khối tương đối cao ở nhiệt độ nước dưới 8 °C trong một hồ đô thị ở Vienna, Áo. Wener và cs. (2020) phát hiện ra rằng các đợt nở hoa của R. raciborskii tạo thành các vệt màu vàng trên bề mặt ở nhiệt độ từ 12,6-15,5 °C trong hồ đô thị phú dưỡng ở miền Nam Brazil (Wener và cs., 2020). Một vài nghiên cứu cho rằng, sự phát triển và nở hoa của *R. raciborskii* ở nhiệt độ thấp là kết quả của sự thúc đẩy đồng thời của các yếu tố bên ngoài và bên trong. Tăng hàm lượng nitơ trong nước có thể nâng cao sự sẵn có sinh học và việc sử dụng nitơ của R. raciborskii, là chất xúc tiến bên ngoài, dẫn đến cải thiện sức chịu đựng của R. raciborskii nơi nhiệt độ thấp. Nguyên nhân bên trong là xuất hiện các kiểu sinh thái khác nhau về mặt di truyền và sinh lý trong quần thể để có thể thích nghi với môi trường nhiệt độ thấp (Jia và cs., 2021). Do đó, có ý kiến cho rằng biến đổi khí hậu thúc đẩy sự phát triển và mở rộng của R. raciborskii không trực tiếp thông qua tác động nhiệt độ mà là tác động của dinh dưỡng ở nhiệt độ thấp. So với việc ngăn chăn sự nóng lên toàn cầu, kiểm soát sự phú dưỡng (đặc biệt là nồng đô nitơ) có thể là một phương tiên thực tế và thuận tiên hơn để ức chế sự mở rộng không gian và sự hình thành nở hoa của *R. raciborskii* (Jia và cs., 2021).

R. raciborskii phát triển nở hoa dưới bề mặt ở độ sâu 2–3 m trong cột nước hoặc phân bố đều trong lớp nước bề mặt xáo trộn. Các chủng *R. raciborskii* từ Úc, Châu Âu, Nam Mỹ và Châu Phi ưa thích ánh sáng yếu cho sự sinh trưởng, với hàm lượng (flux) photon tối ưu cho sự phát triển từ 50 đến 120 mmol photon (PAR) m² s¹. Tuy nhiên, sự tăng trưởng có thể được duy trì ở điều kiện ánh sáng yếu, ngay cả ở thông lượng photon <10 mmol photon (PAR) m² s¹. Ngược lại, Carneiro và cs. (2013b) cho thấy một chủng (Úc) có tốc độ phát triển cao trong thông lượng photon cao tới 348 mmol photon (PAR) m² s¹. Tương tự, 10 chủng *R. raciborskii* được phân lập từ nhiều hồ ôn đới và nhiệt đới cũng được phát hiện có khả năng chịu ánh sáng rộng, từ 30 đến 400 mmol photon m² s¹ (Briand và cs., 2004). Bên cạnh đó, Briand và cs. (2004) cũng chỉ ra rằng một vài chủng (có nguồn gốc từ các vùng khác nhau trên thế giới) bị ức

chế quang hợp tại hàm lượng photon (flux) trên 100 mmol m² s¹, do đó ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của chúng. Trong khi những chủng khác cho thấy tốc độ tăng trưởng tối đa thậm chí lên đến 500 mmol photon (PAR) m² s¹ (Burford và cs., 2016). Sự khác biệt như vậy phụ thuộc rất nhiều vào chủng, nhưng dường như không liên quan đến nguồn gốc địa lý sinh học của các chủng. Tính linh hoạt này cho thấy các chủng khác nhau có khả năng khai thác các thông lượng photon khác nhau khi môi trường ánh sáng thay đổi và do đó có thể là một trong những yếu tố góp phần vào sự thành công của *R. raciborskii*.

Các nhà nghiên cứu trước đây đã đồng ý rằng *R. raciborskii* phát triển ở vùng nước kiềm và không xuất hiện ở vùng nước có tính axit. Tuy nhiên, pH của nước trong nghiên cứu của Wener và cs. (2020) thay đổi từ 5,4-8,7 và mật độ *R. raciborskii* cao nhất, đạt 99,994 ind/mL ở pH 6 và thấp hơn, đạt 61.400 ind/mL ở pH 8,7. Trong một nghiên cứu ở sông Pequeno (São Paulo, Brazil), độ pH là 5,4 được ghi nhận trong một đợt nở hoa của *R. raciborskii*. Trong các vùng nước Brazil, mật độ *R. raciborskii* cao thường xuất hiện ở các vùng nước kiềm, với độ pH thay đổi từ 8 đến 9,4. Tuy nhiên, sự nở hoa cũng đã được ghi nhận ở những vùng nước hơi axit đến kiềm, với độ pH từ 6 đến 10 (Wener và cs., 2020). Những kết quả này chỉ ra rằng *R. raciborskii* có khả năng chịu được khoảng pH rộng.

Sự chiếm ưu thế cũng như khả năng mở rộng khu phân bố trong các thủy vực trên toàn cầu của *R. raciborskii* liên quan đến sự đa dạng các chủng (kiểu sinh thái) trong và giữa các quần thể; khả năng di cư trong cột nước; khả năng chịu ánh sáng yếu; khả năng sinh trưởng trong biên độ nhiệt rộng lớn; khả năng sử dụng nguồn phốt pho nội bào; khả năng hấp thụ cao của phốt pho và amoni; khả năng cố định nitơ khí quyển; khả năng kháng cự các loài động vật phù du; khả năng phân tán cao trong các con sông và đặc biệt là ở các hồ ôn đới thông qua bào tử nghỉ, lây lan bởi các loài chim, các tác nhân khác và khả năng sống sót ở vùng nước hơi mặn. Trong đó, khả năng hấp thụ amoni và phốt pho; khả năng sử dụng các nguồn phốt pho nội bào cũng như khả năng chịu đựng khoảng nhiệt độ rộng lớn là những yếu tố chính thúc đẩy sự phát triển nở hoa của *R. raciborskii*.

Khi điều tra sự phân bố toàn cầu của loài VKL tạo CYN để đánh giá các tác động tiềm tàng trong tương lai, đặc biệt là đối với các kịch bản biến đổi khí hậu. Gin và cs. (2021) đã phát hiện ra loài VKL mới *Synechococcus* sp. có khả năng tạo CYN, chúng cũng có thể chịu đựng sự thiếu hụt nitơ trong thời gian dài thông qua sự phân hủy các sắc tố bao gồm cả chất diệp lục a. Do đó, các thành phần sắc tố khác nhau trong các chủng *Synechococcus* địa phương ngụ ý một loạt các chiến lược hấp thụ ánh sáng và tái chế chất dinh dưỡng, mang lại khả năng chịu đựng cao và khả năng sống sót trong các điều kiện khí hậu đa dạng. *Synechococcus* sp. cũng có thể tồn tại trong khoảng nhiệt độ rộng từ các vùng gần Nam Cực đến vùng nhiệt đới. Khả năng chịu đựng của *Synechococcus* đối với nhiệt độ và các điều kiện dinh dưỡng có thể sẽ thuận lợi dưới những biến động về môi trường do biến đổi khí hậu và đô thị hóa gây ra, điều này sẽ dẫn đến sự gia tăng nhanh chóng nở hoa độc hại của *Synechococcus* trong tương lai (Gin và cs., 2021).

1.4.2. Ở Việt Nam

Trên thế giới đã có rất nhiều công trình khoa học nghiên cứu về thành phần loài VKL sinh độc tố CYN. Ở Việt Nam, những báo cáo về VKL tao CYN còn rất han chế, các nghiên cứu chủ yếu tâp trung vào các loài VKL tao độc tố microcystin (MC) trong các thủy vực nước ngọt nội địa (Hummert, 2001; Đặng Đình Kim và cs., 2014; Christensen, 2006; Bui và cs., 2018). Đối với những loài VKL có tiềm năng sinh độc tố CYN, trong công trình nghiên cứu của Nguyen và cs. (2007), tác giả đã mô tả, phân loại được 33 loài VKL trên sông Hượng và một số thủy vực ở Huế, trong đó đã xác định được hàm lượng CYN khá cao trong chủng Raphidiopsis raciborskii Hcy90 (6,7 µg/mg). Tuy nhiên, hai chủng có tiềm năng tạo CYN (Raphidiopsis mediterrannea Hra6 và Aphanizomenon aphanizomenoides HANY) không cho thấy độc tố CYN khi kiểm tra bằng ELISA và HPLC. Tương tự chủng R. raciborskii HCy90 ở Huế, bốn chủng R. raciborskii (CR1BHB, CR4BHB, CR2DAI và CR3DAI) được phân lập ở Biển Hồ và Đức An, Gia Lai cũng cho thấy khả năng tao CYN với những nồng đô khác nhau. Tiếp theo đó, Nguyễn Thi Thanh đã điều tra sư xuất hiên trên diên rông của các loài VKL có tiềm năng sinh độc tố CYN trong 35 thủy vực nước ngọt thuộc 10 tỉnh (thành) ở khu vực phía Bắc và các tỉnh duyên hải Miền Trung. Kết quả điều tra đã xác đinh được 12 loài

khả năng sinh độc tố CYN. Loài *R. raciborskii* phát hiện ở 8 điểm và 17 điểm có sự hiện diện các loài tiềm năng sinh độc tố CYN. Mật độ loài *Raphidiopsis raciborskii* cao nhất ở hồ Goong (Nghệ An) đạt 1347,8 x 10⁶ tb/mL. Mật độ nhóm các loài VKL có tiềm năng sinh CYN cao nhất đạt 2233,24 x 10⁶ tế bào/mL (điểm Trường Thi). Bên cạnh đó, kết quả phân tích độc tố CYN bằng kỹ thuật ELISA trong các mẫu tự nhiên cho thấy trong số 28 địa điểm nghiên cứu có 21 điểm phát hiện thấy có độc tố. Hàm lượng CYN cao nhất đạt 1,036 ng/mL tại hồ Công viên 29/3, Đà Nẵng (Hoàng Thị Thanh, 2011).

Năm 2015, khi tiến hành phân lập và nuôi cấv chủng *R. raciborskii* trong hồ chứa Dầu Tiếng, Pham và cs. (2015) cho thấy kích thước tế bào, đặc biệt chiều dài tế bào của các chủng R. raciborskii trong hồ chứa này lớn hơn so với kích thước tế bào, chiều dài tế bào ở hồ chứa Trị An và những khu vực ở Huế (Pham và cs., 2015). Cùng thời điểm và địa điểm thu mẫu, Nguyễn Thu Hồng và cs. (2015) đã xác định hàm lượng độc tố trong 15 chủng R. raciborskii được phân lập từ hồ Dầu Tiếng. Bằng phương pháp sắc kí lỏng cao áp đầu dò huỳnh quang HPLC-FD gắn với lò phản ứng sau cột, 11 trong số 15 chủng Raphidiopsis raciborskii đã được phát hiện chứa độc tố STX với hàm lượng dao động từ 13,40 µg/g đến 84,57 µg/g. Đến năm 2017, Đào Thanh Sơn và cs. đã công bố sư xuất hiện cũng như độc tính sinh thái của loài Raphidiopsis raciborskii lên loài vi giáp xác Daphnia magna ở hồ Xuân Hương và kết quả khảo sát đã cho thấy dịch chiết xuất từ loài Raphidiopsis raciborskii ở nồng đô 1 mg/L và 5 mg/L đã kích thích sự sinh sản và ảnh hưởng nhe đến sự sống sót của D. magna. Tuy nhiên, nồng đô 25 mg/L và 100 mg/L dẫn đến tỷ lê tử vong cao và làm giảm tổng số con non tích lũy của loài giáp xác này (Dao và cs., 2017). Khác với các chủng ở hồ Dầu Tiếng, các chủng Raphidiopsis raciborskii được phân lập trong một số thủy vực ở Huế, Gia lai lại sản sinh ra độc tố CYN khi kiểm tra bằng phương pháp HPLC và ELISA. Bên cạnh đó, các loài có khả năng tạo CYN như: Raphidiopsis curvata; Raphidiopsis mediterranea; Aphanizomenon sp. cũng được phân lập nhưng không tạo ra độc tố CYN (Nguyen và cs., 2012, 2017). Cũng trong nghiên cứu này nhóm tác giả đã khuếch đai thành công nhóm gen tổng hợp CYN trong các chủng Raphidiopsis raciborskii độc ở Huế. Đồng thời cho rằng dinh dưỡng và nhiệt độ là các yếu tố mội trường ảnh hưởng đến mật đô của Raphidiopsis raciborskii (Nguyen và cs., 2017).

Trên thế giới, khi nghiên cứu về các loài VKL tạo độc tố CYN, các công trình không chỉ nghiên cứu ở mức độ quần thể mà còn đi sâu phân tích các đặc điểm sinh lý, sinh thái và di truyền của từng chủng bên trong và giữa các quần thể. Từ đó đưa ra những biện pháp quản lý hiệu quả nhóm loài này. Tại Việt Nam, các nghiên cứu chuyên sâu về nhóm loài này còn rất hạn chế.

1.4.3. Ở Đắk Lắk

Mặc dù được mệnh danh là xứ sở của hồ, tuy nhiên, hệ thực vật phù du đặc biệt là nhóm loài VKL độc trong các thủy vực này dường như chưa được nghiên cứu đầy đủ. Các nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào điều tra thành phần loài thực vật phù du; biến động cấu trúc quần xã thực vật phù du trong một số thủy vực. Trong nghiên cứu của Dao (1998) đã điều tra được 93 loài thực vật phù du từ Hồ Lắk và tác giả cũng ghi nhận mật độ thực vật phù du nhỏ hơn 1.000.000 cá thể/L từ hồ. Những điều tra về sự tương tác giữa thực vật phù du và các thông số môi trường được thực hiện trong thời gian này. Đến năm 2016, Dao và cs. đã có những nghiên cứu đầy đủ hơn về khu hê thực vật phù du nơi đây. Kết quả điều tra cho thấy, có 312 loài thực vật phù du phân bố trong sáu lớp: Tảo lục, tảo cát, tảo vàng, tảo mắt, tảo hai roi và VKL. Đồng thời, mật độ thực vật phù du đạt được là cao hơn nhiều so với nghiên cứu trước đây của Dao (1998), đạt từ 62.400 - 14.580.000 cá thể/L. Bên canh đó, phân tích mối tương quan phù hợp (CCA) cũng được áp dụng để đánh giá mối tượng quan giữa các thông số môi trường lên sự phân bố của quần xã TVPV. Các thông số môi trường như: pH, đô đục, nhu cầu oxy hóa học, sắt, độ dẫn điện và nhôm có mối tương quan chặt chẽ với sự phân bố của TVPV trong toàn hồ (Dao, 2016). Bên cạnh hồ tự nhiên, nghiên cứu về biến động cấu trúc quần xã TVPD gắn liền với những tác động của yếu tố môi trường cũng được khảo sát trong ba hồ chứa (hồ Ea Nhái, hồ Ea Suop và hồ Đắk Minh) thuộc tỉnh Đắk Lắk. Qua nghiên cứu, tác giả xác định được 489 loài TVPD phân bố trong 10 lớp, 15 bộ, 46 họ và 109 chi. Mật độ tế bào TVPD trong ba hồ biến động từ 57.5000- 133.200 tb/L, thấp hơn so với hồ Lắk (1.10⁶ – 10.10⁶ tb/L). Phân tích CCA ở hồ Ea Nhái cho thấy sự phân bố số lượng, thành phần loài TVPD có quan hệ rõ rệt theo mùa và các yếu tố thủy lý (pH, nhiệt độ, độ trong), thủy hóa (Si, DO, N-NH4, N-NO3, P-PO4, TP) có tác động đến sự phân bố của quần xã TVPD trong mùa mưa. Tương tự, hồ Đăk Minh và hồ Ea Suop cũng cho thấy mối tương quan chặt chẻ giữa yếu tố môi trường và cấu trúc thành phần loài TVPD vào

một số tháng nhất định (Lê Thương, 2010). Nhìn chung, các điều tra về khu hệ thực vật nổi trong các thủy vực nước ngọt của tỉnh chỉ mới tập trung vào tác động của yếu tố môi trường lên sự biến động cấu trúc quần xã TVPD mà chưa quan tâm đến ảnh hưởng của yếu tố sinh học (các nhóm sinh vật trong thủy vực) tác động lên nhóm loài này. Bên cạnh đó, những nghiên cứu về nhóm loài VKL độc nói chung và VKL sinh độc tố CYN nói riêng chưa được quan tâm mặc dù nhóm loài này đã hiện diện với tỷ lệ khá cao trong thành phần loài TVPD ở một số thủy vực ở Đắk Lắk (Lê Thương, 2010; Dao, 2016). Hơn nữa, những dữ liệu về độc tố VKL và độc tố CYN chưa được xác định trong hệ thống các hồ chứa nơi đây.

Như vậy, trên thế giới và ở Việt Nam, hiện tượng nở hoa tảo độc hại do VKL gây ra vẫn là những thách thức lâu dài trong các thủy vực nước ngọt nội địa, đặt ra các mối đe dọa nghiêm trọng đối với sức khỏe cộng đồng và hệ sinh thái thủy sinh. Mặc dù, đã có rất nhiều nghiên cứu về phân loại, sinh lý, sinh hóa, di truyền, sinh thái ở nhóm loài VKL tạo CYN. Tuy nhiên, với khả năng phân bố trong nhiều thủy vực trên toàn cầu, tồn tại ổn định trong nhiều điều kiện môi trường khác nhau, khả năng gây độc lên nhiều cơ quan và khả năng tích lũy sinh học cao đã làm cho độc tố CYN trở nên cấp thiết trong các cơ sở cung cấp nước uống liên quan đến việc bảo vệ nguồn nước. Bên cạnh đó, việc thiếu đi các dấu hiệu giám sát trực quan trong quá trình nở hoa của hầu hết những loài VKL tạo độc tố CYN như: sự hình thành váng, vệt trên bề mặt nước, sự thay đổi màu sắc của thể nước đã làm cho những loài này trở thành thách thức lớn đối với các nhà quản lý nguồn nước trong việc dự báo sớm nguy cơ ô nhiễm.

Ngày nay, hiện tượng nở hoa của nhóm loài VKL độc hại tăng theo hướng cả tần suất, cường độ và thời gian trong các thủy vực cung cấp nước uống và nước giải trí, đặc biệt tăng tần suất xuất hiện thêm những loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN, dẫn đến tình trạng thiếu nguồn nước uống có đủ chất lượng cung cấp cho cộng đồng. Vì vậy, cần tập trung điều tra, sàng lọc để phát hiện thêm nhiều loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN, xác định những yếu tố môi trường kiểm soát và điều khiển sự phát triển bùng phát nhóm loài VKL này. Từ đó, làm cơ sở để xây dựng một chương trình quản lý nước tổng hợp và bền vững.

1.5. Điều kiện tự nhiên chung của khu vực nghiên cứu

1.5.1. Vị trí địa lý

Đắk Lắk có diện tích tự nhiên là 13.030,5 km². Vị trí địa lý nằm trong khoảng từ 107°28'57" đến 108°59'37" độ kinh Đông và từ 12°9'45" đến 13°25'06" độ vĩ Bắc có độ cao trung bình 400÷800 m so với mặt nước biển. Phía bắc giáp tỉnh Gia Lai, phía đông giáp tỉnh Phú Yên và Khánh Hòa, phía nam giáp tỉnh Lâm Đồng, phía tây nam giáp tỉnh Đắk Nông và phía tây giáp Vương Quốc Campuchia có đường biên giới dài 193 km. Nét đặc trưng của địa hình Đắk Lắk là sự phân bật rất rõ ràng, nghiêng và thấp dần theo hướng Đông Nam sang Tây Bắc (Sở Tài nguyên và Môi trường Đắk Lắk).

1.5.2. Khí hậu

Do vị trí địa lý địa hình nên khí hậu ở Đắk Lắk vừa chịu sự chi phối của khí hậu nhiệt đới gió mùa, vừa mang tính chất của khí hậu cao nguyên mát dịu. Song chịu ảnh hưởng mạnh nhất, chủ yếu nhất vẫn là khí hậu Tây Trường Sơn, đó là nhiệt độ trung bình không cao, mùa hè mưa nhiều, ít nóng bức do chịu ảnh hưởng của gió mùa Tây Nam, mùa đông mưa ít. Vùng phía Đông và Đông Bắc tỉnh là vùng khí hậu trung gian, chịu ảnh hưởng của cả khí hậu Tây và Đông Trường Sơn. Trong năm chia làm 2 mùa rõ rệt: Mùa mưa từ tháng 5 đến tháng 11 kèm theo gió Tây Nam thịnh hành, các tháng có lượng mưa lớn nhất là tháng 7, 8, 9, lượng mưa chiếm 80 - 90% lượng mưa năm. Lượng mưa trung bình nhiều năm toàn tỉnh đạt từ 1.446 - 2.074 mm; mùa khô từ tháng 11 đến tháng 4 năm sau và lượng mưa chỉ chiếm 15 - 20%, trong mùa này độ ẩm giảm, gió Đông Bắc thổi mạnh, bốc hơi lớn, gây khô hạn nghiêm trọng.

Nhiệt độ: Đặc điểm nổi bật của chế độ nhiệt ở Tây Nguyên nói chung cũng như trong tỉnh Đắk Lắk nói riêng là hầu như không có mùa lạnh với một nền nhiệt độ đồng đều, chênh lệch nhiệt độ giữa các tháng không cao và có sự hạ thấp nhiệt độ theo độ cao. Nhiệt độ không khí trung bình năm dao động từ 22 - 26 °C, chênh lệch nhiệt độ giữa các tháng trong năm thấp nên biên độ nhiệt độ của năm không cao (4 - 6 °C). Biên độ dao động nhiệt độ ngày đêm khá lớn có khi lên tới 10 - 12 °C; các tháng 1, tháng 2 và tháng 3 có biên độ nhiệt độ dao động giữa ngày và đêm lớn nhất (12 - 15 °C); mặc dù biên độ nhiệt độ ngày đêm lớn, nhưng biên độ dao động nhiệt độ năm chỉ từ 3 - 5°C. Nhiệt độ bình quân năm đạt 23,8 °C ở Buôn Ma Thuột; Vùng thung lũng 21,9 °C.

Lượng mưa: Lượng mưa khác nhau ở các độ cao khác nhau, không những tuân theo quy luật nhất định của độ cao địa hình mà còn chịu ảnh hưởng rất lớn bởi sự che chắn của núi. Những nơi có độ cao thấp thì lượng mưa giảm (thung lũng, ao, hồ, sông, suối khoảng 1.600 - 1.800 mm). Mùa lũ trong năm làm cho hệ sinh vật trong ao, hồ tràn ra sông suối và ngược lại. Lượng mưa ngày đạt giá trị cực đại và số ngày mưa liên tục kéo dài cả tuần, cực đại thường rơi vào tháng 7, tháng 8 và tháng 9 lên tới 300 – 400 mm như vùng Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk; vào mùa khô lượng mưa không đáng kể.

Độ ẩm: Vào mùa mưa độ ẩm cao (80-85%), thường rơi vào các tháng 5, tháng 8 và tháng 9; thấp nhất vào tháng 3 khoảng 10%. Phân bổ không gian của độ ẩm thể hiện quy luật chung là tăng theo độ cao của địa hình, độ ẩm thấp tuyệt đối chỉ đạt 1% ở Buôn Ma Thuột.

Số giờ nắng: Vùng nghiên cứu hàng năm khoảng 2.150 - 2.500 giờ/năm. Tháng có số giờ nắng nhiều nhất thường rơi vào tháng 3 và đạt tới 230 - 280 giờ/tháng; 9,0 giờ/ngày. Tháng có số giờ nắng ít nhất thường rơi vào tháng mùa mưa và chỉ đạt khoảng 100 - 150 giờ/tháng; 3,4 giờ/ngày.

Gió: Hướng gió thịnh hành trong vùng thay đổi rõ rệt theo mùa. Từ tháng V tới tháng IX gió có hướng Tây, Tây Nam là chủ yếu. Từ tháng XI IV hướng gió Đông, Đông Nam là chủ yếu. Hướng gió Tây thịnh hành ở Buôn Ma Thuột chiếm tần suất 50 - 55% trong các tháng mùa hạ tháng VI, VII, VIII. Trong các tháng mùa Đông XI, XII, I gió Đông thịnh hành tần suất xuất hiện 60 - 70% (Sở Tài nguyên và Môi trường Đắk Lắk).

1.5.3. Đặc điểm các hồ chứa nghiên cứu

Hồ tự nhiên và hồ chứa trên địa bàn tỉnh Đấk Lắk đều thuộc hai hệ thống sông lớn là hệ thống sông Sêrêpốk và hệ thống sông Ba và được chia thành 6 tiểu lưu vực sông khác nhau: Sông Krông Knô, Sông Krông Ana, Sông Ea H'Leo, Sông Krông H'Nang và Sông Hinh. Hai hồ chứa nghiên cứu, hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong đều nằm trên hai hệ thống sông lớn này. Mỗi hồ chứa nằm trong một lưu vực và chịu tác động của con người ở những mức độ khác nhau. Hồ Ea Nhái mặc dù có một phần diện tích nhỏ rừng Keo lá tràm bao phủ nhưng là nơi tiếp nhận nhiều nguồn nước thải sinh hoạt, chịu tác động trực tiếp từ việc nuôi cá lồng bè thâm canh và từ canh tác nông nghiệp trong lưu vực. Hồ Buôn Phong chịu tác động chủ yếu từ hoạt động canh tác nông nghiệp xung quanh lưu vực và nước thải chăn nuôi gia súc từ hộ dân (Sở NN và PTNN Đắk Lắk). 1.5.3.1. Hồ Ea Nhái

Hồ chứa nước Ea Nhái (12°44'41"; 108°11'53") nằm ở xã Hòa Đông, huyện Krông Pắc, tỉnh Đắk Lắk. Ea Nhái là hồ cảnh quan và hồ cung cấp nước uống cho toàn thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk. Trong lòng hồ có một con suối tự nhiên chảy từ sông Krông Păk, lượng nước dự trữ trong hồ chủ yếu là nguồn nước mưa nhận từ lưu vực hồ chứa. Diện tích bề mặt là 250 ha và dung tích trữ nước hiệu quả là 15 triệu m³. Độ sâu trung bình của hồ là 6 m, vị trí sâu nhất khi có khả năng cung cấp đầy đủ là 17 m. Diện tích lưu vực của hồ là 165 km², trong lưu vực có một phần nhỏ diện tích đất rừng tự nhiên keo lá tràm, phần lớn diện tích còn lại được sử dụng chính cho canh tác nông nghiệp với cây chủ lực là cà phê và lúa. Ngoài vai trò cung cấp nước uống, cải tạo môi trường sinh thái và cảnh quan du lịch, hồ còn có vai trò tích trữ nước phục vụ tưới tiêu, đủ tưới cho 3150 ha trong đó có 150 ha lúa nước và 3000 ha cà phê và nuôi trồng thủy sản. Hồ tiếp nhận chất thải và chất ô nhiễm từ việc nuôi cá lồng bè thâm canh, nước thải sinh hoạt và nước thải nông nghiệp xung quanh lưu vực (Sở NN và PTNN Đắk Lắk).

1.5.3.2. Hồ Buôn Phong

Buôn Phong là một hồ chứa nhân tạo thuộc xã Cư Dlie M Nông, huyện M'gar, tỉnh Đắk Lắk, có vị trí tọa độ 12°92'01"vĩ độ Bắc và 108°16'24"kinh độ Đông. Dung tích hồ 3,3 triệu m³, diện tích lưu vực của hồ là 13 km². Độ sâu trung bình của hồ là 10 m, với vị trí sâu nhất với tổng khả năng cung cấp là 20 m. Hồ có vai trò chính là tích trữ và điều tiết nước phục vụ tưới tiêu cho các vùng canh tác nông nghiệp (nông trường cà phê Đ'RAO). Nông nghiệp thâm canh chủ yếu là cà phê và lúa sử dụng đất chủ yếu trong diện tích lưu vực hồ. Hồ tiếp nhận chất ô nhiễm từ nước thải chăn nuôi gia súc từ các hộ dân, nước thải sinh hoạt và nước thải nông nghiệp xung quanh lưu vực (Sở NN & PTNT Đắk Lắk).

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng

Vi khuẩn lam và vi khuẩn lam có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong.

2.1.2. Địa điểm nghiên cứu

Vị trí thu mẫu tại 2 hồ được lựa chọn trên địa bàn tỉnh Đắk Lắk như trong bảng 2.1 và hình 2.1.

Нà	Vị trí thu mẫu	Kí hiệu điểm	Tọa độ		
110		thu mẫu	Vĩ độ bắc	Kinh độ đông	
Hồ Ea	Gần đập chắn	EN1	12°73'47"	108°19'98"	
Nhái	Xa đập chắn	EN2	12°74'62"	108°19'76"	
1 (1144	Cửa suối đổ vào hồ	EN3	12°75'69"	108°19'96"	
Hồ Buôn	Gần đập chắn	BP1	12°91'92"	108°16'23"	
Phong	Xa đập chắn	BP2	12°92'37"	108°16'77"	
	Cửa suối đổ vào hồ	BP3	12°92'09"	108°16'92"	

Bảng 2.1. Vị trí thu mẫu

Vị trí thu mẫu được chọn dựa vào đặc điểm tự nhiên của thủy vực như hình thái, độ sâu, dòng chảy và mối liên hệ của thủy vực với các nguồn nước chảy vào và chảy ra nhằm đại diện cho từng thủy vực.

Vị trí gần đập chắn là nơi có độ sâu lớn nhất, độ trong cao vào mùa khô, tập trung nhiều chất dinh dưỡng và gần cửa tháo nước cho hệ thống thủy lợi.

Vị trí xa đập chắn là nơi hồ có eo ngách, gần với khu vực canh tác nông nghiệp.

Vị trí có cửa suối đổ vào là nơi thu nhận lượng chất dinh dưỡng của suối, nhận nguồn nước ngầm từ vùng lưu vực, nhận các loài thực vật nỗi có nguồn gốc sông suối....



Hình 2.1. Bản đồ các vị trí thu mẫu của 2 hồ chứa, tỉnh Đắk Lắk 2.1.3. Thời gian nghiên cứu

Việc thu mẫu trong hai hồ được thực hiện hàng tháng, thu trong vòng một năm từ tháng 5 năm 2019 đến tháng 4 năm 2020. Tiến hành thu tại 6 vị trí thu mẫu đã được định vị trong hai hồ. Thông tin về các vị trí thu mẫu được trình bày trong bảng 2.1.

Trong 12 lần thu mẫu tổng cộng thu được 144 mẫu định tính (72 mẫu xác định thành phần loài VKL và 72 mẫu phân lập các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN), 504 mẫu định lượng (72 mẫu dùng để xác định thể tích sinh học VKL, 216 mẫu dùng để phân tích các yếu tố thủy hóa và 216 mẫu dùng để phân tích hàm lượng độc tố CYN trong môi trường). Tất cả các mẫu thu cho phân tích định tính, định lượng, phân lập, phân tích độc tố, phân tích các yếu tố môi trường đều thu trong cùng một ngày và thu cố định ở 6 vị trí thu mẫu đã được xác định trong hai hồ (EN1, EN2, EN3, BP1,BP2 và BP3).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu ngoài thực địa

Phương tiện thu mẫu: Ở cả hai hồ đều sử dụng thuyền máy của ngư dân.

Mẫu định tính: Các mẫu để kiểm tra định tính thực vật phù du được thu thập bằng lưới vớt sinh vật phù du (kích thước mắt lưới 20 μ m) tại 6 vị trí thu mẫu và ngay lập tức được cố định bằng dung dịch formaldehyde ở nồng độ cuối cùng là 4% (v/v) (Findlay và Kling, 2001).

Mẫu định lượng: Để xác định thể tích sinh học thực vật phù du, các mẫu được thu thập bằng một ống nhựa có gắn thiết bị Luppe, dài 2 m và đường kính 10 cm tại 6 vị trí thu mẫu. Sau đó, các mẫu nước (độ sâu 0-2 m) được trộn trong một xô. Một lít nước mẫu được lấy ra, cố định bằng dung dịch Lugol acid 1%, để lắng 48 giờ, xi phông phần nước trên còn lại 100 mL. Hút 1 mL cho vào buồng đếm Sedgewick-Rafter (Findlay và Kling, 2001).

Mẫu nuôi: Thu ở 6 vị trí thu mẫu, tại mỗi vị trí lấy mẫu, mẫu nước bề mặt (mẫu sống, mẫu không cố định bằng dung dịch formaldehyde) cũng được thu thập bằng lưới vớt sinh vật phù du để phân lập VKL. Mẫu được bảo quản ở nơi thoáng mát và chuyển ngay về phòng thí nghiệm tiến hành phân lập (Nguyen và cs., 2017).

Mẫu phân tích độc tố: Thu ở 6 vị trí thu mẫu, tại mỗi vị trí thu mẫu 1,5 mL mẫu nước dưới bề mặt được lấy và mỗi vị trí thu mẫu lấy 3 lần. Các mẫu được bảo quản trong ống Eppendorf và đông lạnh ở -18 °C cho đến khi phân tích (Nguyen và cs., 2017).

Mẫu phân tích thông số môi trường: Thu tại 6 vị trí thu mẫu, ở mỗi một vị trí mẫu nước dưới bề mặt được thu và tiến hành thu 3 lần tại mỗi vị trí bằng các chai nhựa polypropylene đã làm sạch để phân tích các thông số dinh dưỡng (P-PO₄, N-NH₄, N-NO₃, TP và TN). Các mẫu được giữ trong tối ở 4 °C trước khi được vận chuyển đến phòng thí nghiệm để phân tích (Chorus và Welker, 2021).

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu trong phòng thí nghiệm

Các thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm Công nghệ gen, Công nghệ tế bào thuộc Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Huế. Phân tích thành phần môi trường được tiến hành tại phòng thí nghiệm Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Đại học Tây Nguyên.

2.2.2.1. Phân tích định tính

Mẫu được phân tích bằng kính hiển vi quang học có gắn bộ phận chụp ảnh. Xử lý ảnh phân loại bằng phần mềm Adobe Photoshop CS3 Extended Virsion 10.0.

Những loài VKL được xác định bằng kính hiển vi quang học (Olympus BX51) sử dụng phương pháp so sánh hình thái dựa vào hình dạng cơ thể (đơn bào, tập đoàn dạng khối hay dạng sợi), hình dạng tế bào và cấu trúc sợi (đặc biệt là hình dạng tế bào đầu ngọn hay gốc của sợi), vỏ bao sợi, sự phân nhánh của sợi hay vị trí, số lượng các tế bào dị hình trên sợi tảo. Phân loại dựa trên các tài liệu tham khảo của Dương Đức Tiến, 1996; Komárek và Anagnostidis, 1989; Komárek và cs., 1999, 2005, 2014. *2.2.2.2. Phân tích định lượng*

Số lượng tế bào VKL được đếm dưới kính hiển vi quang học (Olympus BX51) ở độ phóng đại 400X trên lam kính. Số lượng sợi hoặc tập đoàn được đếm ở độ phóng đại 200X bằng cách sử dụng buồng đếm Sedgewick-Rafter dưới kính hiển vi quang học (Olympus BX51) (Karlson và cs., 2010). Thể tích sinh học được ước tính từ số lượng tế bào bằng cách xác định thể tích tế bào trung bình cho mỗi đơn vị phân loại, sau đó nhân giá trị này với số lượng tế bào trong mẫu. Thể tích tế bào trung bình được xác định bằng cách giả định các dạng hình học cho các tế bào của các đơn vị phân loại. Đo các kích thước hình học từ 10–30 tế bào (tùy thuộc vào độ biến thiên của tế bào) của mỗi đơn vị phân loại cho phép tính được thể tích trung bình tương ứng (Wood và cs., 2009; Chorus và Welker, 2021).

Cách đếm:

Đối với VKL dạng sợi tự nhiên: đếm số lượng tế bào của 30 sợi trên lam kính ở độ phóng đại 400X, lấy giá trị trung bình số tế bào của mỗi sợi. Sau đó, đếm số lượng sợi trên buồng đếm Sedgewick-Rafter, lấy giá trị trung bình số sợi trong một ô rồi suy ra số lượng tế bào trung bình trong một ô. Tiến hành đếm số lượng sợi ở độ phóng đại 200X, đếm ở 100 ô vuông nhỏ (4 góc và chính giữa buồng đếm). Nếu số lượng sợi quá ít thì đếm từ 300 đến 500 ô. Nếu số lượng sợi quá nhiều thì tiến hành pha loãng. Đếm lặp lại 3 lần và kết quả là giá trị trung bình của 3 lần đếm.

Đối với dạng tập đoàn (như *Microcystis*): Mẫu nước được sonicate nhanh trong 2-3 phút đủ để làm rời các tế bào trong tập đoàn thành đơn bào trước khi đưa vào buồng đếm. Tùy theo mật độ tế bào mà có thể hòa loãng từ 10-20 lần, lắc đều mẫu trước khi cho vào buồng đếm. Sử dụng kính hiển vi ở độ phóng đại 200X. Để mẫu lắng trong vòng 60 phút trước khi đếm. Số lượng ô đếm 50 ô ngẫu nhiên rãi rác trong buồng đếm.

Mật độ tế bào (tb/mL) =
$$\frac{C.1000.V1}{V2}$$

Trong đó:

C: Số lượng tế bào trung bình đếm được trong 1 ô (trung bình 3 lần đếm).

V1: Thể tích sau khi xi phông (mL).

V2: Thể tích ban đầu lấy mẫu (mL).

2.2.2.3. Phương pháp phân lập và nuôi cấy

Để phân lập, các mẫu được cô đặc bằng cách ly tâm hoặc lọc qua lưới nylon. Phân lập VKL có khả năng tạo CYN từ các mẫu thực vật phù du sống bằng phương pháp tách tế bào hay sợi đơn sử dụng pipet Pasteur. Tế bào hay sợi VKL đơn được gắp và chuyển vào một giọt môi trường Z8 (đã khử trùng) nhiều lần để loại bỏ các tế bào khác bám vào hoặc các hạt lơ lửng (Kotai và cs., 1972). Các chủng phân lập được nuôi cấy trong môi trường Z8 trong 1-2 tuần, ở 24 ± 4 °C, chu kỳ chiếu sáng là 12 giờ sáng và 12 giờ tối với cường độ 2.000 - 3.000 lux (Nguyen và cs., 2017). Sau đó các chủng được kiểm tra và cấy chuyển nhiều lần để đảm bảo sạch tảo và chuyển sang bình tam giác 10 mL trong cùng điều kiện để duy trì.

Môi trường Z8

- Dung dich stock I

NaNO ₃	46.7 g
Ca(NO ₃).4H ₂ O	5.9 g
MgSO ₄ .3H ₂ O	2.5 g

Hòa tan các chất (riêng biệt) trong nước cất và pha loãng thành 1 lít.

- Dung dich stock II

K_2HPO_4	3.1 g
Na ₂ CO ₃	2.1 g

Hòa tan các chất (riêng biệt) trong nước cất và pha loãng thành 1 lít.

- Dung dịch stock III

Dung dịch Fe: Hòa tan 2.8 g FeCl₃.6H₂O trong 100 mL HCl 0.1 N.

Dung dịch EDTA: Hòa tan 3.9 g EDTA-Na₂ trong 100 mL NaOH 0.1 N.

Lấy 10 mL dung dịch Fe hòa tan trong 900 mL nước cất. Sau đó thêm 9.5 mL dung dịch EDTA và bổ sung nước cất đủ 1 lít.

- Dung dịch stock IV

1. Na ₂ WO ₄ .2H ₂ O	0.330 g/100 mL
2. (NH4)6M07O24.4H2O	0.880 g/100 mL
3. KBr	1.20 g/100 mL
4. KJ	4. 0.83 g/100 mL
5. ZnSO ₄ .7H ₂ O	2.87 g/100 mL
6. Cd(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	1.55 g/100 mL
7. Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	1.46 g/100 mL
8. CuSO ₄ .5H ₂ O	1.25 g/100 mL
9. NiSO4(NH4)2SO4.6H2O	1.98 g/100 mL
10. Cr(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	0.410 g/100 mL
11. V ₂ O ₅	0.0890 g/1000 mL
12. KAl(SO ₄) ₂ .12H ₂ O	4.74 g/100 mL
13. H ₃ BO ₃	3.10 g
MnSO ₄ .H ₂ O	1.60 g /1000 mL

Thêm 1 mL từ dung dịch 1-10 & 12, 10 mL từ dung dịch 11 và 100 mL từ dung dịch 13 trong 700 mL nước cất. Bổ sung nước cất đến 1 lít.

- Pha môi trường Z8

Sục 500 mL nước cất với khí CO₂ trong 30 phút. Sau đó thêm 10 mL dung dịch stock I, 10 mL dung dịch stock II, 10 mL dung dịch stock III, 1 mL dung dịch stock IV. Bổ sung nước cất đến 1 lít và chuẩn độ pH từ 6-7.

2.2.2.4. Phân tích độc tố bằng kỹ thuật ELISA

Nồng độ CYN trong các mẫu được kiểm tra bằng kỹ thuật ELISA sử dụng bộ kit Abraxis Cylindrospermopsin ELISA (Microtiter Plate) (Abraxis, Hoa Kỳ). Mật độ quang của mẫu được đo ở bước sóng 450 nm trên một hệ thống đọc ELISA tự động và nồng độ của CYN (µg/L) trong các mẫu được xác định dựa trên đường chuẩn của CYN-HRP. Nếu nồng độ CYN trong các mẫu cao hơn so với chất chuẩn (2 µg/L), các mẫu được pha loãng cho đến khi nằm trong khoảng của đường chuẩn.

Phương thức thực hiện

Hút 1ml dung dịch mẫu tự nhiên và mẫu nuôi cấy, phá vỡ hoàn toàn tế bào bằng phương pháp cấp đông/rã đông (freeze (< 0 °C)/thaw (nhiệt độ phòng)) theo hướng dẫn của nhà sản xuất, ly tâm 10.000 vòng/phút ở 4 °C trong 10 phút, sau đó hút dịch nổi sang ống Eppendorf mới. Thực hiện theo các bước sau:

1. Thêm 50 µl mỗi: dung dịch chuẩn (0-6), đối chứng, LRB và mẫu vào các giếng.

 Thêm 50 μl dung dịch CYN liên kết enzym (CYN-HRP, votex trước khi sử dụng) vào mỗi giếng bằng pipette đa kênh.

3. Thêm 50 μl dung dịch kháng kháng thể (Rabbit anti-CYN antibodies) vào mỗi giếng bằng pipette đa kênh. Bọc các giếng bằng lớp parafilm; trộn hỗn hợp trong mỗi giếng bằng cách xoay vòng đĩa trong 30 giây. Sau đó ủ đĩa trong 45 phút, ở nhiệt độ phòng.

4. Sau khi ủ, lột lớp bọc đĩa, đổ mạnh để loại bỏ dịch lỏng trong mỗi giếng. Rửa các giếng bốn lần bằng đệm rửa. Sử dụng ít nhất 250 μl đệm rửa 1X cho mỗi giếng trên mỗi lần rửa. Úp ngược đĩa để đổ hết dịch đệm lên giấy thấm sạch.

5. Thêm 100 μl dung dịch cơ chất vào giếng bằng pipet đa kênh. Bọc các giếng bằng lớp parafilm; trộn hỗn hợp trong mỗi giếng bằng cách xoay vòng đĩa trong 30 giây. Sau đó ủ đĩa trong 30-45 phút, ở nhiệt độ phòng, trong tối.

6. Thêm 100 µl dung dịch dừng phản ứng vào giếng bằng pipet đa kênh.

7. Đưa đĩa vào máy đọc kết quả ELISA, đọc ở bước sóng 450 nm trong vòng 15 phút sau khi thêm dung dịch dừng phản ứng. Nếu nồng độ độc tố lớn hơn nồng độ chuẩn thì mẫu cần phải pha loãng cho đến khi nồng độ độc tố nằm trong giới hạn cho phép của đường chuẩn.

2.2.2.5. Phân tích độc tố bằng kỹ thuật HPLC

Sinh khối của các chủng nuôi cấy được thu hoạch ở cuối giai đoạn tăng trưởng theo cấp số nhân bằng cách ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 6000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng. Sinh khối được đông khô bằng cách làm khô đông lạnh trong chân không ở -55 °C trong 24 giờ, sau đó được bảo quản ở -20 °C trước khi phân tích độc tố (Nguyen và cs., 2007).

Các mẫu sinh khối VKL đông khô được chiết trong 2,5 mL metanol (MeOH-99,9%) có chứa 0,1% axit trifluoroacetic (TFA) trong bể siêu âm trong 15 phút. Sau đó, các mẫu được siêu âm trong 1 phút. Dịch chiết được lọc qua cột sắc ký C18 đã được làm sạch bằng metanol. Sau khi lọc, dịch lọc được làm bay hơi ở nhiệt độ phòng (30 °C) trong 5 phút. Phần còn lại sau khi bay hơi được hòa tan trong 250 µL nước cất hai lần khử ion và được lọc bằng ly tâm (4.000 vòng/phút trong 30 phút) trước khi phân tích HPLC (Nguyen và cs., 2007). Hệ thống HPLC Thermo bao gồm bộ tiêm mẫu tự động UltiMate 3000 và Detector UltiMate 3000 (UV); Cột BDS Hypersil C18 (250 × 4,6 mm, 5.0 µm), pha động: MeOH (A) 30% - nước chứa 10 mM amoni axetat (B) 70% (v/v), tốc độ dòng: 0,8 mL/phút; thể tích mẫu: 10 µL; nhiệt độ buồng cột: 30 °C; thời gian phân tích: 7 phút; các mẫu được tiêm vào pha động trước cột. Trong cột, các thành phần được tách ra và Detector (UV) phát hiện CYN ở bước sóng 262 nm. Cylindrospermopsin được định tính bằng thời gian lưu và được định lượng bằng mối tương quan giữa nồng độ và diện tích peak ở bước sóng 262 nm bằng cách sử dụng chất chuẩn CYN (CRM-CYN, PESTANAL®, Sigma-Aldrich Pte. Ltd.) làm chất ngoại chuẩn.

2.2.2.6. Phân tích các thông số môi trường

Các yếu tố hóa lý như: Nhiệt độ, pH, độ đục (NTU) được đo ngay tại nơi thu mẫu bằng các thiết bị và dụng cụ:

 Nhiệt độ và pH đo bằng máy thử cầm tay đa thông số PCSTestr 35 (Eutech-Singapore).

- Độ đục (NTU) đo bằng máy đo Lovibond - Đức.

Các phân tích hóa học (P-PO₄, N-NH₄, N-NO₃, TP và TN) được phân tích theo tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) tại phòng thí nghiệm của Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Đại học Tây Nguyên.

Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Amoni (N-NH ₄)	TCVN 5988 : 1995
Nitrat (N-NO ₃)	TCVN 6180 : 1996
Nitơ tổng số (TN)	TCVN 6638 : 2000
Phosphat (P-PO ₄)	TCVN 6202 : 2008
Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

Bảng 2.2. Các yếu tố thủy hóa được phân tích trong hai hồ nghiên cứu

2.2.2.7. Phân tích sự hiện diện của gen liên quan đến sự sinh độc tố CYN

Tách chiết ADN tổng số: 10 mL mẫu trong mỗi chủng được thu sinh khối ở giai đoạn tăng trưởng theo cấp số nhân bằng cách ly tâm ở 1500 vòng/phút trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Sinh khối được chuyển vào ống Eppendorf 1,5 mL và được đông lạnh ở -18 °C cho đến khi tách chiết ADN. Việc tách chiết ADN tổng số của bộ gen được thực hiện theo quy trình CTAB của Doyle và Doyle (1987) với một số sửa đổi. Sinh khối VKL được nghiền trong 1mL dung dịch đêm 2×CTAB đã được làm nóng trước (65 °C) và 10 μL β-mercaptoethanol và sau đó được ủ ở 65 °C trong 1 giờ. ADN được chiết xuất bằng dung dịch phenol chloroform - isopenthyl-ethanol (25: 24: 1), sau đó ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút ở 4 °C trong 10 phút để thu phần nổi phía trên. Phần nổi phía trên được hút vào một ống Eppendorf mới, thêm isopropanol theo tỷ lệ 1: 1 và đặt trong tủ lạnh sâu trong vòng một giờ. Sau đó, ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút ở 4 °C trong 15 phút để thu ADN kết tủa. Kết tủa ADN được rửa lại bằng cách thêm 1 thể tích etanol (70%). Thu tủa ADN bằng cách ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút ở 4 °C trong 10 phút, làm khô ở nhiệt đô phòng qua đêm, sau đó tái huyền phù trong 20 µL nước cất hai lần (Doyle và Doyle, 1987).

Khuếch đại phân đoạn gen liên quan đến sự sinh tổng hợp độc tố: Các phân đoạn gen cyrB và cyrC tham gia vào quá trình sinh tổng hợp CYN được khuếch đại bằng phương pháp PCR với hai cặp mồi oligonucleotit M4/M5 và M13/M14 (Schembri và cs., 2001).

Gen	Mồi	Trình tự mồi (5'- 3')	Kích thước phân	
đích			đoạn gen (bp)	
cyrB	M13 1F	GGCAAATTGTGATAGCCACGAGC	597	
	M14 1R	GATGGAACATCGCTCACTGGTG		
cyrC	M4 1F	GAAGCTCTTGGAATCCGGTAA	650	
	M5 1R	AATCCTTACGGGATCCGGTGC		

Bảng 2.3. Những cặp mồi được sử dụng để khuếch đại phân đoạn gen cyrB và cyrC

Điều kiện chu kỳ nhiệt đối cho phản ứng PCR là 1 chu kỳ ở 94 °C trong 4 phút, 30 chu kỳ ở 94 °C trong 10 giây, ở 55 °C trong 20 giây, ở 72 °C trong 1 phút và 1 chu kỳ ở 72 °C trong 7 phút (Schembri và cs., 2001). Phản ứng khuếch đại ADN được thực hiện trong chu trình nhiệt (iCyler, Bio-Rad). Các sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,4% ở 50V trong đệm 1xTAE trong 45 phút. Phân tích hình ảnh điện di trên máy đọc Gel Ultra slim LED illuminator.

2.2.3. Xử lý số liệu

Sử dụng mô tả thống kê trong phần mềm Microsoft Excel.

Phân tích thành phần chính (PCA) và phân tích tương quan Pearson được sử dụng để đánh giá mối quan hệ của các thông số môi trường (pH, nhiệt độ nước, độ đục, N-NO₃, N-NH₄, P-PO₄, TN và TP) lên thể tích sinh học VKL tạo CYN và nồng độ CYN trong hai hồ chứa nghiên cứu. Phần mềm IBM-SPSS Statistics phiên bản 22.0 được sử dụng để phân tích kết quả với mức ý nghĩa 5%.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần loài VKL hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong, tỉnh Đắk Lắk 3.1.1. Thành phần loài VKL

Kết quả khảo sát thành phần loài VKL đã ghi nhận được 34 loài thuộc 14 chi, 6 họ và 3 bộ (Chroococcales, Oscillatoriales và Noctoscales). Danh mục thành phần loài VKL được sắp xếp theo hệ thống phân loại của Komárek & Anagnostidis (1999, 2005) và được trình bày ở bảng 3.1.

		Hồ Ea Nhái		Hồ Buôn phong			
STT	Tên khoa học	(EN)		(BP)			
		Mùa	Mùa	Mùa	Mùa		
		mưa	khô	mưa	khô		
	Bộ Chroococcales						
	Họ Mer	rismopedia	ceae				
1	Aphanocapsa holsatic	-	+	+	+		
2	Merismopedia tenuissima	+	+	+	+		
3	Woronichinia compacta	-	-	+	+		
4	Woronichinia naegeliana	-	-	+	+		
5	Snowella fennica	-	-	+	-		
	Họ Microcystaceae						
6	Microcystis aeruginosa	-	+	+	+		
7	Microcystis wesenbergii	-	+	+	+		
8	Microcystis botrys	-	+	+	+		
9	Microcystis flos-aquae	-	+	+	+		
10	Microcystis panniformis	-	+	+	+		
11	Microcystis novacerkii	-	-	+	+		
12	Microcystis cf natan	-	-	+	+		
13	Microcystis sp.1	-	-	-	+		
14	Microcystis sp.2	-	-	-	+		

Bảng 3.1. Thành phần loài VKL ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong

Bộ Oscillatoriales					
Ho Oscillatoriaceae					
15	<i>Lyngbya</i> sp.	+	+	-	-
16	Oscillatoria limosa	-	+	-	+
17	Oscillatoria sancta	-	-	-	+
18	Oscillatoria sp.1	-	-	-	+
19	Oscillatoria sp.2 - + -		-	+	
20	Oscillatoria sp.3	-	+	-	+
	Họ Pł	ormidiacea	ne		
21	Phormidium willei	+	+	-	-
22	Phormidium acticulatum	+	+	-	-
	Họ Pseu	danabaena	ceae		
23	Planktolyngbya brevicellularis	-	+	-	-
24	Planktolyngbya circumcreta	-	-	+	+
25	Planktolyngbya limnetica	-	-	+	+
26	Pseudanabaena minima	-	+	-	-
27	Pseudanabaena mucicola	-	+	-	-
	Bộ	Nostocales			
	Họ N	Nostocaceae	<u>)</u>		
28	Raphidiopsis raciborskii	+	+	+	+
29	Raphidiopsis mediterranea	-	+	-	-
30	Raphidiopsis curvata	+	+	-	-
31	Anabaena sp.1	-	-	-	+
32	Anabaena sp.2	-	-	+	+
33	Dolichospermum circinale	-	-	-	+
34	Chrysosporum ovalisporum	-	-	-	+

Ghi chú: Dấu +: Xuất hiện; Dấu -: không xuất hiện.

Từ bảng 3.1 cho thấy ở hồ Buôn Phong xác định được 26 loài VKL phân bố trong 3 bộ, 5 họ và 10 chi. Bộ Chroococcales bao gồm những loài dạng đơn bào, tập đoàn có 2 họ (chiếm 40% tổng số họ), 5 chi (chiếm 50% tổng số chi) và 14 loài (chiếm 53,9% tổng số loài). Tiếp đến là bộ Oscillatoriales bao gồm những loài dạng sợi,

không có tế bào dị hình có 2 họ (chiếm 40%), 2 chi (chiếm 20%), 7 loài (chiếm 26,9%); bộ Nostocales gồm những loài dạng sợi, có tế bào dị hình có 1 họ (chiếm 18,1%), 3 chi (chiếm 30%), 5 loài (chiếm 19,2%) (Hình 3.1). Về mặt không gian, tất cả các loài đều có mặt tại cả 3 vị trí nghiên cứu BP1, BP2 và BP3. Điều này cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về mặt phân bố loài theo không gian, phản ánh tính chất khá đồng nhất của môi trường nước trong toàn hồ. Xét về mặt thời gian, thành phần loài VKL trong hồ cho thấy sư biến đông theo mùa, thấp vào mùa mưa (16 loài) và cao hơn vào mùa khô (25 loài).

Ở hồ Ea Nhái, chúng tôi ghi nhân được 19 loài VKL phân bố trong 3 bô, 6 ho và 9 chi. Bộ Chroococcales gồm 2 họ (chiếm 33,3% tổng số họ), 3 chi (chiếm 30% tổng số chi) và 7 loài (chiếm 36,8% tổng số loài). Bộ Oscillatoriales gồm 3 họ (chiếm 50%), 5 chi (chiếm 50%), 9 loài (chiếm 47,4%) và bộ Nostocales gồm 1 họ (chiếm 16,7%), 2 chi (chiếm 20%), 3 loài (chiếm 15,8%) (Hình 3.1). Tương tự hồ Buôn Phong, thành phần loài VKL hồ Ea Nhái phân bố khá đồng đều về mặt không gian, tất cả các loài đều có mặt ở cả 3 vị trí thu mẫu: EA1, EA2 và EN3. Qua đó, cho thấy tính chất môi trường nước khá đồng đều trong toàn hồ. Tuy nhiên, trong hồ Ea Nhái lai cho thấy sư biến đông thành phần loài VKL theo thời gian một cách rõ rệt, số loài đạt giá trị rất thấp vào mùa mưa (6 loài) và cao hơn đáng kể vào mùa khô (19 loài).



Hình 3.1. Tỷ lệ phần trăm số loài theo các bộ ở hai hồ nghiên cứu a. hồ Ea Nhái, b. hồ Buôn Phong

a

Tỷ lệ phần trăm tương đối của các chi VKL trong hồ Buôn Phong là Microcystis chiếm 34,6%, Oscillatoria chiếm 19,2%, các chi như Planktolyngbya, Anabaena, Woronichini mỗi chi chiếm 7,7% và các chi còn lại như Chrysosporum, Raphidiopsis, Dolichospermum, Snowella, Merismopedia, Aphanocapsa mỗi chi chiếm 3,85%. Trong hồ Ea Nhái, chi Microcystis chiếm 26,2%; Raphidiopsis và Oscillatoria mỗi chi chiếm 15,8%; Phormidium và Pseudanabaena mỗi chi chiếm 10,5% và các chi còn lại như Planktolyngbya, Lyngbya, Merismopedia, Aphanocapsa mỗi chi chiếm 5,3%. Trong cả hai hồ nghiên cứu đều cho thấy chi Microcystis có số lượng loài nhiều nhất (Hình 3.2).



Hình 3.2. Tỷ lệ phần trăm số loài trong các chi VKL ở hồ nghiên cứu a. hồ Ea Nhái, b. hồ Buôn Phong

Trong nghiên cứu này, thành phần loài VKL hồ Ea Nhái ít hơn so với thành phần loài VKL hồ Buôn Phong. Nhưng khi so sánh với các nghiên cứu về thành phần loài VKL trong một số thủy vực đã được công bố, kết quả khảo sát cho thấy số lượng loài VKL trong cả hai hồ (hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong) nhiều hơn số lượng loài VKL được ghi nhận tại ba hồ chứa ở Cao nguyên Lâm Viên tỉnh Lâm Đồng (hồ Tuyền Lâm + hồ Sông Hương + hồ Đan Kia- 26 loài - Trần Thị Tình, 2017), hai hồ chứa ở Đấk Lấk (hồ Easoup + hồ Đăk Minh – 29 loài – Lê Thương, 2010), 23 hồ chứa ở Srilanca (13 loài - Senanayake và cs., 2017) và 19 hồ chứa ở Đông Bắc Brazil (23 loài - Aragão và cs., 2013). Nhưng ít hơn đáng kể so với hồ Dầu Tiếng - 42 loài (Pham và cs., 2017), hồ Trị An – 62 loài (Lưu Thị Thanh Nhàn, 2010; Dao và cs., 2016). Sự kém đa dạng về thành phần loài trong hai hồ nghiên cứu có thể một phần do xuất hiện hiện tượng nở hoa của một hoặc một số loài VKL sinh độc tố trong hồ Ea Nhái (nở hoa *R. raciborskii* gần như xuyên suốt năm) và hồ Buôn Phong (nở hoa kết hợp của *R. raciborskii* cùng với các loài thuộc chi *Microcystis* trong suốt những tháng mùa khô). Nở hoa các loài này (*R. raciborskii*; *M. aeruginosa, M. wesenbergii, M. botrys, M. flos-aquae, M. panniformis*) được cho là có khả năng tạo ra độc tố như chất ức chế cảm nhiễm, cạnh tranh về mặt ánh sáng.... Kết quả tương tự cũng được tìm thấy trong các hồ chứa ở Đông Bắc Brazil khi hiện tượng nở hoa của một hoặc một vài loài VKL làm giảm sự giàu loài VKL trong các hồ chứa nghiên cứu (Aragão và cs., 2013).

Ở hồ Ea Nhái, Oscillatoriales là bộ có số lượng loài nhiều nhất trong tổng số loài VKL. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy trong các thủy vực ở Việt Nam như: hồ Dầu Tiếng, hồ Trị An, hồ Hòa Mỹ, hồ Trúc Bạch, một số ao nuôi cá ở Đồng Tháp (Lưu Thị Thanh Nhàn và cs., 2007; Lưu Thị Thanh Nhàn, 2010; Nguyen và cs., 2007; Nguyen và cs., 2016; Pham và cs., 2017). Trong một số thủy vực nước ngoài như: hồ Adzopé ở Côte d'Ivoire; hồ Ipojuca, hồ Carpina và hồ Jucazinho ở Brazil cũng cho thấy Oscillatoriales là bộ có số lượng loài nhiều nhất, lần lượt chiếm chiếm 56,25%, 50%, 46,2% và 50% tổng số loài VKL (Aragão và cs., 2013; Kouassi và cs., 2015). Trong khi đó, ở hồ Buôn Phong, Chroococcales là bộ chiếm tỷ lệ cao nhất về tổng số loài VKL. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu ở hồ công viên 29/3, Đà Nẵng khi bộ Chroococcales chiếm 14 trên tổng số 26 loài (Nguyễn Thị Ben, 2011), hồ chứa Alagoinha (6/13 loài) và hồ chứa Mundaú (5/9 loài) ở Đông Bắc Brazil (Aragão và cs., 2013). Trong nghiên cứu của Hindak và Moustaka (1988) cũng cho thấy nhóm VKL đơn bào, tập đoàn chiếm ưu thế hơn nhóm VKL dạng sợi (Hindak và Moustaka, 1988).

Microcystis là chi chiếm số lượng loài nhiều nhất trong cả quần xã VKL ở hồ Buôn Phong (9 loài) và quần xã VKL hồ Ea Nhái (6 loài). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với những nghiên cứu của một số tác giả khi thấy rằng *Microcystis* là thành phần chính của quần xã VKL trong các thủy vực họ nghiên cứu (Nguyen và cs., 2007; Duong và cs., 2014; Pham và cs., 2017). Sự giàu loài của những chi này trong các thủy vực nước ngọt có thể vì trong những hồ nông, phú dưỡng thường xuất hiện nhiều loài của nhóm VKL không có khả năng cố định Nitơ (Nitơ trong hồ không giới hạn), đặc biệt là bộ Chroococales và bộ Osillatoriales bao gồm chi *Microcystis* và *Oscillatoria* (Havens và cs., 2013). Nhìn chung không có sự khác biệt đáng kể trong phân bố theo không gian của các loài VKL trong cả hai hồ nghiên cứu, điều này phản ảnh tính chất khá đồng nhất của môi trường nước trong toàn hồ. Trong khi đó, xét về mặt thời gian cho thấy sự biến động thành phần loài VKL theo mùa rõ rệt trong cả hai hồ, số loài thấp vào những tháng mùa mưa và cao hơn nhiều vào những tháng mùa khô. Số lượng loài VKL trong hồ Buôn Phong cao hơn số lượng loài VKL hồ Ea Nhái. Chroococcales là bộ chiếm số lượng nhiều nhất cho cả họ, chi và loài trong hồ Buôn Phong nhưng Oscillatoriales là bộ có số lượng họ, chi, loài cao nhất ở hồ Ea Nhái. Bên cạnh đó, *Microcystis* là chi chiếm số lượng loài nhiều nhất trong quần xã VKL ở cả hai hồ nghiên cứu.

3.1.2. Mô tả hình thái các loài VKL nghiên cứu

Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing 1846

Tập đoàn trong khu vực nghiên cứu có dạng nhầy với nhiều hình dạng khác nhau như hình cầu, hình nhẫn, phân thùy hoặc thường ở dạng mắt lưới với nhiều lỗ hổng trong tập đoàn. Bao nhầy không màu, không bền nên tế bào dễ vỡ ra khỏi tập đoàn. Các tế bào riêng lẻ, cách xa nhau, có dạng hình cầu với nhiều không bào khí dày đặc. Các tế bào này có đường kính 3,5-5,5 µm (Hình 3.3 a,b). Loài này có mặt quanh năm hồ Buôn Phong cùng với một số loài thuộc chi *Microcystis* và *Raphidiopsis raciborskii*. Ở hồ EaNhái, loài này chỉ xuất hiện vào mùa khô.

Phân bố phổ biến trong các thủy vực nước ngọt ưu dưỡng ở Việt Nam và là loài chính gây ra hiện tượng nở hoa ở các thủy vực này. Một số chủng phân lập ở hồ Trị An, hồ Dầu Tiếng, hồ Hoàn Kiếm và một số thủy vực ở Huế đã được xác định có khả năng tạo độc tố MC (Dao và cs., 2010; Pham và cs., 2017; Nguyen và cs., 2007).

Microcystis botrys Teiling 1942

Tập đoàn có dạng hình cầu không đều gồm các tập đoàn con với các tế bào tập trung dày đặc ở trung tâm của tập đoàn (Hình 3.3 f). Chất nhầy không màu, bao quanh các cụm tế bào. Tế bào hình cầu với nhiều không bào khí, có màu sẫm, đường kính 4,5–6 µm. Loài này có mặt quanh năm hồ Buôn Phong và chỉ xuất hiện vào mùa khô ở hồ EaNhái.

M. botrys phân bố phổ biến trong các thủy vực nước ngọt ưu dưỡng ở Việt Nam. Một số chủng phân lập ở hồ Trị An, hồ Dầu Tiếng, hồ Hoàn Kiếm và một số thủy vực ở Huế đã được xác định có khả năng tạo độc tố microcystin (Dao và cs., 2010; Pham và cs., 2017; Nguyen và cs., 2007).

Microcystis wesenbergii (Komárek) Komárek ở Kondrateva 1968

Trong khu vực nghiên cứu, loài này hình thành các tập đoàn hình cầu, thon dài hoặc phân thùy. Tập đoàn gồm nhiều tập đoàn con được bao bọc bởi màng nhầy không màu, vững chắc với mép màng khúc xạ rõ rệt. Tế bào hình cầu, đường kính 4,5–6,5 µm, thường phân bố đều trong tập đoàn với nhiều không bào khí (Hình 3.3 e).

Loài này phân bố phổ biến trong các thủy vực nước ngọt ưu dưỡng ở Việt Nam. Một số chủng phân lập ở hồ Trị An, hồ Dầu Tiếng, hồ Hoàn Kiếm và một số thủy vực ở Huế đã được xác định có khả năng tạo độc tố microcystin (Dao và cs., 2010; Pham và cs., 2017; Nguyen và cs., 2007). Trong nghiên cứu, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

Microcystis flos-aquae (Wittrock) Kirchner 1898

Tập đoàn trong khu vực nghiên cứu sống trôi nổi, hình cầu không đều, lớp nhầy không màu, mỏng. Các tế bào hình cầu, kích thước khoảng 3-5 μm với nhiều không bào khí sắp xếp dày đặc trong tập đoàn (Hình 3.3 d).

Loài phân bố chủ yếu trong các thủy vực trung dưỡng đến phú dưỡng, trước đây là loài phổ biến ở vùng ôn đới. Loài này được tìm thấy trong các thủy vực ở Đắk Lắk (hồ Easoup, hồ Đăk Minh), Hà Nội (hồ Hoàn Kiếm, hồ Thành Công, hồ Hòa Bình, Núi Cốc, Kẻ Gỗ) và một số thủy vực ở Huế (Nguyen và cs., 2007; Lê Thương, 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

Microcystis panniformis Komárek, Komárková

Tập đoàn sống trôi nổi, có kích thước hiển vi tương đối lớn, có dạng hình cầu hoặc hơi kéo dài, thỉnh thoảng hình thành các khoảng trống nhỏ trong tập đoàn. Tế bào phân bố không đồng đều, thưa và xếp gần với mép của tập đoàn. Tế bào hình cầu với nhiều không bào khí, đường kính tế bào khoảng 3-4,5 μm (Hình 3.3 c).

Loài phân bố chủ yếu trong các thủy vực phú dưỡng từ nhiệt đới đến á nhiệt đới. Ở Việt Nam loài này được tìm thấy ở hồ Easoup, hồ Núi Cốc và một số thủy vực ở Huế (Lê Thương, 2010; Duong và cs., 2013; Nguyen và cs., 2007). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

Microcystis novacekii (Komarek) Compere ex Komarek 1974

Tập đoàn gần như hình cầu gồm các tập đoàn con, các tế bào trong tập đoàn con tập trung dày đặc với nhau, thỉnh thoảng có vài tế bào đơn lẻ xung quanh. Tâp đoàn được bao quanh bởi lớp chất nhầy dày, mép gợn sóng. Tế bào hình cầu, đường kính từ 2,5-6 µm (Hình 3.4 a).

Phân bố trong các thủy vực từ trung dưỡng đến phú dưỡng. Thỉnh thoảng hình thành hiện tượng nở hoa trong vùng nhiệt đới và hình thành hiện tượng nở hoa vào mùa khô ở vùng ôn đới. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Microcystis natans Lemmerm. ex Skuja 1934

Tập đoàn sống trôi nổi, hình hơi kéo dài, bờ không đều, những tế bào sắp xếp rời rạc, thỉnh thoảng tập trung dày đặc tại bề mặt tập đoàn. Lớp màng nhầy không màu. Tế bào hình cầu hoặc hơi kéo dài trước khi phân chia, đường kính 2,5-6 µm, chứa một đến hai không bào khí (Hình 3.4 b).

Loài phù du, phân bố trong các thủy vực nước ngọt. Xuất hiện trong thủy vực ở phía Bắc Châu Âu, về sau thấy xuất hiện hầu hết trong vùng lạnh ở vùng ôn đới. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Microcystis sp.1

Tập đoàn sống trôi nổi, hình dạng không nhất định, lớp màng nhày bên ngoài màu trắng đục, xuất hiện nhiều lổ hổng lớn bên trong tập đoàn. Tế bào hình cầu, chứa nhiều thể khí, đường kính 2-2,5 μm (Hình 3.4 c,d).

Loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu BP1, BP2 và BP3 trong hồ Buôn Phong.

Microcystis sp.2

Tập đoàn sống trôi nổi, hình cầu, được bao bọc bởi lớp màng nhày bên ngoài. Mép màng nhày sát với mép của tập đoàn. Xuất hiện lổ hổng bên trong tập đoàn. Tế bào có hình cầu, hình trứng và chứa thể khí, đường kính 3-5 µm (Hình 3.4 e,f).

Loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu BP1, BP2 và BP3 trong hồ Buôn Phong.

Aphanocapsa holsatica (Lemmermann) G.Cronberg & Komárek, 1994

Tập đoàn hình cầu hoặc hình dạng bất thường, thỉnh thoảng phân thùy, có nhiều khoảng trống nhỏ bên trong tập đoàn. Màng nhày không màu, mép màng nhày không đều. Những tế bào tập trung dày đặc hoặc thỉnh thoảng phân bố rời rạc, hình cầu, đường kính 1-1,5 μm (Hình 3.5 a).

Loài phù du, phân bố trong các thủy vực nước ngọt phú dưỡng. Loài rất phố biến và có mặt trên toàn cầu. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

Merismopedia tenuissima Lemmermann, 1898

Tập đoàn phẳng, dẹt, có dạng hình chữ nhật, thỉnh thoảng hơi cong, trôi nổi tự do, tập đoàn con có khoảng từ 8-32 tế bào. Tế bào hình cầu hoặc ovan, sắp xếp rời rạc, đường kính tế bào từ 2- 2,5 μm (Hình 3.5 b).

Phổ biến trong những thủy vực nước ngọt phú dưỡng, đặc biệt trong những ao nuôi cá ô nhiễm, ít gặp trong các hồ tự nhiên cũng như những vùng nước lợ. Phân bố trên toàn cầu, phổ biến ở Châu Âu. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

Snowella fennica J.Komárek & J.Komárková-Legnerová 1992

Tập đoàn trôi nổi tự do, đơn độc, có dạng hình cầu hoặc hơi kéo dài. Tập đoàn đa bào, trong đó một tế bào cách những tế bào còn lại và phân bố theo hướng tỏa tròn xuyên tâm. Các tế bào nối lại với nhau ở phần cuối của cuống phân nhánh, mỏng, nhày. Những cuống tế bào sắp xếp phóng xạ từ trung tâm của tập đoàn. Tế bào hình elip, có một hoặc 2 không bào khí, dài 4-6 µm, rộng 2,5-3 µm (Hình 3.5 c,d).

Loài phù du trong các hồ ở miền tây Bắc Châu Âu, phía tây biển Ban Tích và các hồ tự nhiên ở Úc. Trong nghiên cứu, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Woronichinia compacta (Lemmermann) Komarek & Hindak, 1988

Tập đoàn trôi nổi tự do, hình cầu hoặc hình ovan, kích thước tập đoàn đôi khi lên tới 80 μm, về sau phân chia thành nhiều tập đoàn con với nhiều tế bào dày đặc, các tế bào chủ yếu tập trung ở tầng bên ngoài của tập đoàn. Lớp màng nhày rộng, không màu. Tế bào hình trứng ngược, không có không bào khí, dài 4,5-6 μm, rộng 2,5-3 μm (Hình 3.5 e,f).

Loài trôi nổi tự do trong các hồ tự nhiên ở vùng ôn đới, đặc biệt ở vùng phía Bắc. Ở Châu Âu, đặc biệt phổ biến ở vùng Ban Tích, bao gồm biển Ban Tích. Trong nghiên, cứu loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Woronichinia naegeliana (Unger) Elenkin 1993

Trong hồ Buôn Phong, tập đoàn có kích thước hiển vi, hình cầu, hình trái xoan, hình quả thận hoặc phân thùy, kích thước tập đoàn đôi khi lên tới 180 µm, thỉnh thoảng bao gồm nhiều tập đoàn con với các tế bào hầu như sắp xếp dày đặc, chặt và tỏa tròn tạo thành lớp ở ngoại vi. Lớp vỏ màng nhày bao quanh tập đoàn không màu hoặc đôi khi có màu vàng nhạt, thỉnh thoảng nhìn thấy rất rõ, có nhiều tầng tỏa tròn và mở rộng ra bên ngoài tầng tế bào. Tế bào có hình trứng ngược hoặc hình trái xoan với nhiều không bào khí, dài 4-6,5 µm, rộng 3,5-4 µm (Hình 3.5 g,h). Loài trôi nổi được tìm thấy trong các thể nước từ trung dưỡng đến phú dưỡng, thỉnh thoảng hình thành nở hoa. Xuất hiện ở vùng ôn đới, những ghi nhận ở vùng nhiệt đới cần xem xét lại. Ở Việt Nam loài này xuất hiện hồ Tuyền Lâm, sông La Ngà (Trần Thị Tình, 2017; Lưu Thị Thanh Nhàn, 2010) và có khả năng tạo độc tố MC. Trong nghiên cứu loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Oscillatoria limosa C.Agardh ex Gomont, 1892

Mao tản màu lam đen, xanh oliu đến nâu, thường phát triển thành lớp dày, bám vào giá thể, đôi lúc trôi nổi tự do trên mặt nước hay ở dạng mao tản đơn độc trôi nổi cùng các loài vi khuẩn lam hoặc các loài tảo phù du khác. Mao tản thường thẳng, dài, ít khi cong có màu lam tối đến sáng, màu nâu đến nâu violet hoặc xanh olive, rộng 12,5-20 µm, có bao mỏng không màu, không eo thắt tại vách tế bào có hạt, không hẹp hoặc rất ít về cuối sợi. Tế bào chiều dài bằng 1/3-1/6 chiều rộng, dài 2-3,5 µm, bên trong tế bào chứa nhiều hạt (Hình 3.6 a). Tế bào đỉnh lồi, tròn rộng có vách dày lên hoặc không.

Loài nước ngọt, bám trên nền đáy cát hoặc bùn, bám trên nhiều đài vật khác nhau hoặc trôi nổi tự do đơn độc hay thành khối trong các thủy vực nước đứng hoặc chảy chậm, thường xuất hiện trong các thủy vực bị ô nhiễm. Loài phân bố rộng trên toàn thế giới. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

Oscillatoria sancta Kützing ex Gomont 1892

Loài sống đáy, mao tản màu lam sáng hoặc hơi tím nâu, rộng 15,5 -16,5 µm, rất dài, thẳng hoặc hơi cong. Thỉnh thoảng có vỏ bao mỏng nhưng rất hiếm thấy, đôi lúc

có eo thắt nhẹ tại vách ngăn ngang của tế bào. Mao tản không hẹp dần về cuối sợi. Tế bào hình đĩa, chiều rộng gấp 3-6 lần chiều dài, dài 3.5-4 μm. Tế bào đỉnh hình bán cầu với vách tế bào bên ngoài dày lên.

Phân bố trong các thủy vực nước ngọt, sống đáy, bám hoặc đôi khi trôi nổi tư do trong các thủy vực nước đứng hoặc nước chảy, nước lợ và nước mặn. Phân bố trên toàn cầu. Ở Việt Nam loài này xuất hiện sông La Ngà (Lưu Thị Thanh Nhàn, 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Oscillatoria sp.1

Mao tản rộng 18,5-20 µm, không eo thắt tại vách ngăn tế bào, hẹp dần về cuối sợi. Tế bào dài 3,5-4 µm, bên trong tế bào chứa nhiều hạt. Tế bào đỉnh lồi có dạng hình cầu (Hình 3.6 c). Loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu BP1, BP2 và BP3 trong hồ Buôn Phong.

Oscillatoria sp.2

Mao tản rộng 19,5-20 μm, eo thất rõ tại vách ngăn tế bào, không hẹp về cuối sợi. Tế bào dài 3-4 μm, bên trong tế bào chứa nhiều hạt. Tế bào đỉnh lồi, tròn rộng (Hình 3.6 d).

Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

Oscillatoria sp.3

Mao tản rộng 12,5-15 μ m, có lớp bao mỏng, không màu bao bên ngoài mao tản, hơi eo thắt tại vách ngăn tế bào có hạt, không hẹp về cuối sợi. Tế bào dài 4-5 μ m, bên trong tế bào chứa nhiều hạt. Tế bào đỉnh lồi, tròn rộng, đôi khi có lớp mũ bên ngoài (Hình 3.6 e).

Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

Phormidium incrustatum Gomont ex Gomont, 1892

Mao tản màu lam sáng, rộng 3-4,5 μm, có eo thất ở vách ngăn ngang tế bào. Hẹp ở phần đầu mao tản, tế bào đỉnh hình nón tù, vách tế bào bên ngoài dày lên. Tế bào dinh dưỡng có chiều dài bằng hoặc nhỏ hơn chiều rộng, dài 2,5-3,5 μm (Hình 3.6 f). Phân bố trong các thủy vực nước ngọt, các suối và hồ cạn. Phân bố nhiều vùng trên thế giới. Ở Việt Nam xuất hiện trên sông La Ngà (Lưu Thị Thanh Nhàn, 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

Phormidium willei (N.L.Gardner) Anagnostidis & Komárek, 1988

Mao tản màu xanh nhạt, cong ở phần cuối, không eo thất tại vách ngăn ngang của tế bào, không hẹp đầu cuối, rộng 4-5,5 µm. Chiều dài bằng hoặc lớn hơn 1-1,5 lần chiều rộng. Tế bào đỉnh tròn, không có dạng đầu, vách tế bào không dày lên (Hình 3.6 g).

Loài xuất hiện trong các thủy vực nước ngọt ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. ở Việt Nam loài xuất hiện trên sông Là Ngà và vườn quốc gia Lò Gò Xa Mát (Lưu Thị Thanh Nhàn, 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

Phormidium articulatum (Gardner 1927) Anagnostidis and Komárek 1988

Mao tản xanh lam, rộng 4-5 μm, không eo thắt tại vách tế bào và không hẹp đầu cuối. Tế bào sinh dưỡng có chiều dài ngắn hơn chiều rộng, dài 2,5-3,5 μm và thỉnh thoảng chiều dài bằng chiều rộng (Hình 3.6 h,i). Tế bào đỉnh tròn và không dày lên ở vách tế bào bên ngoài.

Loài sống đáy, xuất hiện trong các thủy vực nước ngọt trên thế giới. Xuất hiện chủ yếu ở vùng nhiệt đới nhưng cũng được tìm thấy trong các thủy vực ở Mỹ, bắc Brazil và Châu Âu. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

Pseudanabaena mucicola (Naumann & Huber-Pestalozzi) Schwabe 1964

Những mao tản đơn độc, rất ngắn, gồm từ 2-5 (7) tế bào, có eo thắt rõ ràng ở vách tế bào, dài 11-19 μ m. Mao tản của chúng thường tìm thấy trên lớp màng nhày của *Microcystis aeruginosa, Microcystis botrys* và *Aphanocapsa* sp. Những tế bào đơn độc có hình trụ dài, rộng 1,3-2,2 μ m, dài 2,0-2,5 μ m. Những tế bào đỉnh có hình trụ với đầu hình nón tròn và không có mũ (Hình 3.6 j).

Loài sống trôi nổi, được tìm thấy chủ yếu bên trong hoặc trên bề mặt màng nhầy của những loài VKL phù du, phân bố trên toàn cầu (Komárek & Komárková 2002b). Ở Việt Nam loài này xuất hiện ở sông Hương, Đập Đá, sông La Ngà, hồ Dầu Tiếng (Nguyen và cs., 2007; Lưu Thị Thanh Nhàn, 2010; Pham và cs., 2017) và có khả năng tạo độc tố MC. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại ở cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

Pseudanabaena minima (G.S.An) Anagnostidis 2001

Những mao tản đơn độc, màu xanh lam nhạt, có eo thất rõ ràng ở vách ngăn ngang tế bào, không hẹp đầu cuối, rộng 2,5-3 μm. Tế bào sinh dưỡng có chiều dài dài hơn chiều rộng, dài 3-5 μm. Tế bào tận cùng hình tròn rộng (Hình 3.6 k).

Loài sống đáy, được tìm thấy trên đất ẩm, trên bùn. Sống bám trên trong các ao, suối, đầm và cánh đồng muối. Phân bố trên vùng ôn đới. Ở Việt Nam loài này xuất hiện ở sông La Ngà (Lưu Thị Thanh Nhàn, 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

Planktolyngbya limnetica (Lemmermann) Komárková-Legnerová & Cronberg 1992

Sợi đơn độc, trôi nổi tự do, thẳng hoặc hơi cong. Vỏ bao chắc chắn, hẹp, không màu. Mao tản màu xanh lam nhạt hoặc xanh hơi vàng, rộng 1,5-1,8 µm, không eo thắt hoặc thỉnh thoảng hơi eo thắt tại vách tế bào. Các tế bào hình trụ, dài 1,8-4,5 µm, không có không bào khí, thỉnh thoảng có vài hạt dự trữ. Tế bào đỉnh tròn hoặc hơi nhọn (Hình 3.6 l).

Loài phù du, phân bố trong các hồ tự nhiên và hồ chứa nước ngọt, hiếm khi nước mặn. Ở châu Âu, xuất hiện phổ biến trong các hồ ở Nordic nhưng cũng được tìm thấy trong một số khu vực ở vùng ôn đới và có khả năng phân bố trên toàn thế giới (Canada, Nhật Bản, Brazil...). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Planktolyngbya circumcreta (G.S.West) Anagn. & Komárek 1988

Sợi đơn độc, trôi nổi tự do, cuộn dạng xoắn ốc không đều đến cuộn dạng đinh ốc hẹp, chiều rộng của mỗi vòng xoắn khoảng 35-47 µm. Mỗi cuộn xoắn gồm từ 2-9 vòng xoắn, thường phổ biến từ 2-2,5 vòng xoắn. Vỏ bao dày, chắc chắn, không màu thường bao bọc bên ngoài sợi. Sợi có màu xanh lam nhạt, rộng 1,8-2,1 µm, không eo thắt tại vách tế bào. Tế bào có dạng hình vuông, dài 1,5-2 µm, thỉnh thoảng chiều dài dài hơn chiều rộng. Tế bào đỉnh tròn, không có mũ (Hình 3.6 m).
Loài phù du, lần đầu tiên được tìm thấy ở hồ Victoria, phân bố chủ yếu trong các thể nước kiềm ở những quốc gia cận nhiệt đới đến các vùng ấm áp ở khu vực ôn đới, thỉnh thoảng phát triển thành thảm. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Lyngbya sp.

Sợi tảo dài, hơi cong đôi khi thắng, rộng 9-10 µm (Hình 3.5 d). Vỏ bao dày, trong suốt, không màu. Mao tản hình trụ, màu xanh lam nhạt, rộng không eo thắt ở vách ngăn tế bào có hạt nhỏ, hẹp dần về phía đầu. Tế bào dài từ 2,5-3 µm, chứa nhiều hạt li ti, tế bào tận cùng tròn hoặc bán cầu, không bằng đầu, không có mũ, vách tế bào phía ngoài không dày lên. Loài có tiềm năng sinh độc tố CYN.

Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

Anabaena sp.1

Trong hồ Buôn Phong, loài tồn tại dạng sợi thẳng, đơn độc, trôi nổi tự do. Tế bào dinh dưỡng hình thùng, hơi tròn dài 2-3 µm, rộng 2,5-3 µm. Tế bào dị hình hình thùng, dài 4-4,5 µm, rộng 5-5,5 µm. Bào tử nghỉ hình gần ovan dài 5-5,5 µm, rộng 4-4,5 µm (Hình 3.7 a,b). Loài có tiềm năng sinh độc tố CYN.

Trong nghiên cứu loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Chrysosporum ovalisporum (Forti) E. Zapomelová, O. Skácelová, P. Pumann, R. Kopp & E. Janecek, 2012

Loài tồn tại dạng sợi đơn độc, trôi nổi, thẳng hoặc hơi cong. Tế bào dinh dưỡng hình trụ, dài 4,5-8 µm, rộng 2,5-4,5 µm. Tế bào dị hình hình cầu, đường kính từ 4-5 µm. Bào tử nghỉ hình ovan với chiều dài 10-12,5 µm, rộng từ 6,5 -8µm (Hình 3.7 c,d).

Loài này lần đầu tiên được mô tả ở Ý. Nở hoa lần đầu được mô tả từ Hồ Kinneret, Israel, vào năm 1994 (Pollingher và cs. 1998). Đa số các trường hợp nở hoa được báo cáo cho đến nay đều tạo ra độc tố CYN (Cire's và cs., 2011; Cire's và Ballot, 2016), mặc dù các chủng không độc cũng đã được phân lập từ hồ Kinneret và hồ ở Tanzania cũng như như từ các hồ đô thị ở Adelaide, Nam Úc (Cire's và Ballot, 2016; Bowling và cs., 2018). Trong nghiên cứu loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong. Loài có khả năng tạo ra độc tố CYN.

Anabaena sp.2

Trong hồ Buôn Phong, loài tồn tại dạng sợi thẳng, đơn độc, trôi nổi tự do. Tế bào dinh dưỡng hình thùng dài 3-4,5 μm, rộng 4-6,5 μm. Tế bào dị hình hình cầu đường kính 6,5-7 μm. Bào tử nghỉ hình ovan dài 11,5-13 μm, rộng 8-10 μm (Hình 3.7 e, f). Loài có khả năng sinh độc tố CYN.

Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Dolichospermum circinale (Rabenhorst ex Bornet et Flahault 1886) Wacklin, Hoffmann et Komarek 2009

Sợi *Dolichospermum circinale* trong hồ Buôn Phong đơn độc, sống trôi nổi, cuộn hình xoắn ốc hoặc cuộn dạng lượn sóng. Tế bào sinh dưỡng hình thùng, rộng 6,5-8 μm, dài 3,5-5 μm. Tế bào dị hình hình cầu với đường kính 5,5-6,5 μm (Hình 3.7 g,h), bào tử nghỉ không quan sát thấy trong môi trường tự nhiên.

Loài này trước đây đã được ghi nhận ở Việt Nam từ Hồ Ba Mẫu, Hà Nội (Duong, 1996). Một số chủng phân lập ở hồ Trị An có khả năng tạo độc tố MC (Dao và cs., 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

Raphidiopsis raciborskii (Wołoszyńska) Aguilera, Berrendero Gómez, Kasto-vsky, Echenique & Salerno

Trong hai hồ nghiên cứu, sợi *Raphidiopsis raciborskii* trôi nổi tự do, hơi cong và thất chặt ở vách tế bào, thon dần về phía cuối sợi với các tế bào hình nón tròn (Hình 3.8. a,b,c,d). Tế bào sinh dưỡng có hình trụ, dài 4,5-10,5 µm, rộng 2,5-4,5 µm và tế bào dị hình đơn lẻ, hình nón hoặc hình mũi tên, rộng 2,5-4,5 µm, dài 6,5-10,5 µm. Bào tử nghỉ có dạng hình bầu dục dài, dài 8-12 µm, rộng 3,5-4 µm và nằm ngay sau dị bào hoặc cách 3-4 tế bào sinh dưỡng từ tế bào dị hình trong mẫu tự nhiên.

Loài có mặt hầu hết ở các lục địa ngoại trừ vùng cực. Loài này trước đây được tìm thấy ở Hà Nội, Huế và Nha Trang với tên gọi *Anabaenopsis raciborskii* Woloszynska (Duong, 1996). Trong các năm gần đây, *Raphidiopsis raciborskii* xuất hiện ở hồ Xuân Hương, Biển Hồ, hồ Đức An, hồ Dầu Tiếng, hồ Trị An và một số thủy vực ở Huế... (Dao và cs., 2010, 2014; Nguyen và cs., 2007). Loài có khả năng tạo ra độc tố CYN. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

Raphidiopsis mediterranea Skuja 1937

Trong hồ Ea Nhái, loài ở dạng sợi trôi nổi tự do, hầu hết là thẳng đôi khi cong, không eo thắt tại vách ngăn ngang tế bào, thon nhọn dần về cuối sợi với đỉnh sắc nhọn cả hai đầu. Các tế bào dinh dưỡng hình trụ, với nhiều không bào khí, dài từ 5,5-12,5 µm, rộng 3-5 µm. Bào tử nghỉ không được quan sát thấy trong tự nhiên (Hình 3.8 e,f).

Loài phân bố trên toàn thế giới. Ở Việt Nam, *Raphidiopsis mediterranea* được tìm thấy trong một số thủy vực ở Huế (Nguyen và cs., 2007). Loài có khả năng tạo ra độc tố CYN. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

Raphidiopsis curvata Fritsch and Rich 1929

Sợi đơn độc, sống trôi nổi, hơi uốn cong, không eo thắt ở vách ngăn ngang tế bào, thuôn nhọn cả hai đầu sợi. Tế bào dinh dưỡng hình trụ, dài 7,5-15,5 μm, rộng 2-4,5 μm (Hình 3.8 g,h). Không quan sát thấy bào tử nghỉ trong môi trường tự nhiên của hồ.

Loài phân bố trên toàn thế giới. Ở Việt Nam, *Raphidiopsis curvata* được tìm thấy đầu tiên bởi Dang và cs. (2002). Về sau, *Raphidiopsis curvata* được phân lập từ một số thủy vực ở Huế (Nguyen và cs., 2007). Loài có khả năng tạo ra độc tố CYN. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.



Hình 3.3. Các loài VKL a,b. Microcystis aeruginosa; c. Microcystis panniformis;
d. Microcystis flos-aquae; e. Microcystis wesenbergii; f. Microcystis botrys trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. Thước 10 μm



Hình 3.4. Các loài VKL a. Microcystis novacerkii; b. Microcystis cf natan; c,d. Microcystis sp.1; e,f. Microcystis sp.2 trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. Thước 10 μm



Hình 3.5. Các loài VKL a. Aphanocapsa holsatic; b. Merismopedia tenuissima;
c,d. Snowella fennica; e,f. Woronichinia compacta; g,h. Woronichinia
naegeliana trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. Thước 10 μm



Hình 3.6. Các loài VKL a. Oscillatoria limosa; b. Oscillatoria sancta; c.
Oscillatoria sp.1; d. Oscillatoria sp.2; e. Oscillatoria sp.3; f. Phormidium incrustatum; g. Phormidium willei; h,i. Phormidium acticulatum; j.
Pseudanabaena mucicola; k. Pseudanabaena minima; l. Planktolyngbya
limnetica; m. Planktolyngbya circumcret trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.
Thước 10 μm



Hình 3.7. Các loài VKL a. Anabaena sp.1; b. Chrysosporum ovalisporum;
c. Anabaena sp.2; d. Dolichospermum circinale trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. Thước 10 μm



Hình 3.8. Các loài VKL a,b,c,d. Raphidiopsis raciborskii; e,f. Raphidiopsis mediterranea; g,h. Raphidiopsis curvata trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. Thước 10 μm

3.1.3. Các loài VKL có khả năng sinh ra độc tố trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong

Tại hai hồ nghiên cứu đã xác định được 16 loài VKL (chiếm 47,1% tổng số loài) nằm trong danh mục các loài có khả năng sản sinh độc tố và được trình bày trong bảng 3.2. Trong đó chi *Microcystis, Pseudanabaena, Woronichinia* tạo ra độc tố gan; chi *Anabaena, Dolichospermum, Oscillatoria, Planktolyngbya* thường tạo ra độc tố gan và độc tố thần kinh; chi *Chrysosporum, Raphidiopsis* tạo ra độc tố tế bào và độc tố thần kinh (Chorus và Welker, 2021).

STT	Tên khoa học	Nguồn trích dẫn
1	Merismopedia tenuissima	Mohamed and Al-Shehri, 2010.
2	Woronichinia naegeliana	Willame và cs., 2005.
3	Microcystis aeruginosa	Carmichael và cs., 1988.
4	Microcystis wesenbergii	Yasumo và cs., 1995.
5	Microcystis botrys	Via-Ordorika và cs., 2004.
6	Microcystis flos-aquae	Via-Ordorika và cs., 2004.
7	Microcystis panniformis	Via-Ordorika và cs., 2004.
8	Microcystis novacerkii	Li H và cs., 2009.
9	Oscillatoria limosa	Mohamed và cs., 2008.
10	Planktolyngbya limnetica	Christensen và cs., 2006.
11	Pseudanabaena mucicola	Oudra và cs., 2002.
12	Dolichospermum circinale	Pomati và cs., 2006.
13	Chrysosporum ovalisporum*	Stucken và cs., 2009.
14	Raphidiopsis raciborskii*	Ohtani và cs., 1992.
15	Raphidiopsis mediterranea*	McGregor và cs., 2011.
16	Raphidiopsis curvata*	Li và cs., 2001a.

Bảng 3.2. Thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong

Ghi chú: dấu *: Loài có khả năng sinh độc tố CYN.

Từ bảng 3.2 cho thấy, hồ Buôn Phong có 13 loài VKL có khả năng sinh độc tố, trong đó có 2 loài có khả năng sinh độc tố CYN (*Chrysosporum ovalisporum*, *Raphidiopsis raciborskii*). Ở hồ Ea Nhái, có 11 loài VKL có khả năng sinh độc tố với

3 loài có khả năng sinh độc tố CYN là *Raphidiopsis raciborskii, Raphidiopsis mediterranea* và *Raphidiopsis curvata*. Kết quả cho thấy rằng, số lượng VKL độc trong khu vực nghiên cứu là khá cao chiếm gần 50% tổng số loài, trong đó có bốn loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN bao gồm: *Chrysosporum ovalisporum, Raphidiopsis raciborskii, Raphidiopsis mediterranea* và *Raphidiopsis curvata*. Tỷ lệ nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố trong hai hồ nghiên cứu cao hơn nhiều so với tỷ lệ ở 3 hồ chứa tại cao nguyên Lâm Viên (chiếm 30,8% tổng số loài), hai hồ chứa (hồ Easoup + hồ Đăk Minh) ở Đắk Lắk (chiếm 34,6% tổng số loài). Điều này cho thấy nguy cơ ô nhiễm độc tố cũng như rủi ro tiềm ẩn về vấn đề sức khỏe khi sử dụng nguồn nước nơi đây là rất lớn.

Trong hồ Buôn Phong cho thấy sự đồng xuất hiện của loài *R. raciborskii* với những loài *Microcystis* ssp. trong suốt thời kỳ nghiên cứu. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của một số tác giả trước đây và họ cho rằng sự đồng ưu thế này có lẽ do khả năng tự điều chỉnh vị trí của mình trong cột nước và chúng có điều kiện môi trường sống một phần trùng nhau (Soares và cs., 2013; Moura và cs., 2015). Trái với kết quả trên, một số nghiên cứu cho rằng *R. raciborskii* đồng ưu thế hoặc đồng xuất hiện với những loài thuộc chi *Lyngbya, chi Planktolyngbya* và *chi Planktothrix* còn *Microcystis* thì xuất hiện cùng với những loài thuộc cùng một chi *Sphaerocavum* (Soares và cs., 2013). Thậm chí, một số tác giả tìm thấy sinh khối của chi *Microcystis* đã thay thế sinh khối của chi *Raphidiopsis* trong một vài hệ sinh thái nước (Marinho và cs., 2002; Crossetti và cs., 2008).

Ngược lại, trong hồ Ea Nhái loài *R. raciborskii* chiếm ưu thế quanh năm. Sự chiếm ưu thế quanh năm của loài này cũng được bắt gặp trong một số hồ chứa ở vùng nhiệt đới. Điều này có lẽ do *R. raciborskii* có nhu cầu ánh sáng thấp, khoảng chịu đựng nhiệt độ lớn, chiến lược sử dụng nitơ linh động, khả năng hấp thu và dự trữ photpho cao (Soares và cs., 2013; Burford và cs., 2016) hay nói cách khác chúng có biên độ sinh thái rộng nơi những yếu tố môi trường chủ đạo. Kèm theo đó là khả năng tạo độc tố như chất cảm nhiễm, sống cách tầng nước mặt 2-3 m và khả năng tạo bào tử nghỉ dưới cường độ ánh sáng cao (Senanayake và *cs.*, 2017). Không giống như hồ Buôn Phong, những loài VKL thuộc chi *Microcystis* hồ Ea Nhái chỉ xuất hiện vào

những tháng mùa khô với thể tích sinh học khá thấp. Một số tác giả cho rằng khả năng chịu đựng cường độ ánh sáng cao và khả năng chịu được điều kiện phân tầng đã ủng hộ những loài *Microcystis* ssp. trội trong suốt những tháng mùa hè của năm (Soares và *cs.*, 2013).

Như vậy, trong hai hồ nghiên cứu, có 16 loài VKL có khả năng sản sinh độc tố. Ở hồ Buôn Phong có 13 loài và hồ Ea Nhái có 11 loài. Những loài *Microcystis* spp. chiếm ưu thế trong hồ Buôn Phong. Trong khi đó, chi chiếm ưu thế trong hồ Ea Nhái lại là *Raphidiopsis*. Có 4 loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN bao gồm: *Chrysosporum ovalisporum, Raphidiopsis raciborskii, Raphidiopsis mediterranea* và *Raphidiopsis curvata*.

3.2. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong

3.2.1. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái 3.2.1.1. Thể tích sinh học của các loài VKL hồ Ea Nhái

Từ kết quả phân tích chúng tôi nhận thấy thể tích sinh học của *R. raciborskii* chiếm tỉ lệ cao nhất, tiếp đến là *Lyngbya* sp., *Raphidiopsis curvata, Microcystis* spp., *Raphidiopsis mediterranea*. Loài *Merismopedia tenuissima* có thể tích sinh học thấp nhất trong quần xã VKL hồ Ea Nhái.

Thể tích sinh học của *R. raciborskii* biểu hiện sự khác biệt theo thời gian với giá trị thấp nhất là 0,77 mm³/L tháng 6 năm 2019 và giá trị cao nhất là 66,80 mm³/L vào tháng 1 năm 2020. Mặc dù *R. raciborskii* không tạo váng trên bề mặt nước nhưng xuất hiện những vệt vàng lơ lững dưới bề mặt nước vào những tháng mùa khô trong hồ.

Tiếp theo đó, thể tích sinh học của loài *Lyngbya* sp. chiếm tỷ lệ tương đối thấp từ 0,00-1,85 mm³/L. Loài này không xuất hiện quanh năm, có mặt vào thời điểm giao mùa và mùa khô của năm. Thể tích sinh học đạt giá trị cao nhất vào cuối mùa khô (1,85 mm³/L - tháng 3/2020).

Loài *Raphidiopsis curvata*, được xem như loài có khả năng tạo độc tố CYN, xuất hiện quanh năm trong hồ nghiên cứu nhưng với thể tích sinh học nhỏ hơn rất nhiều so với *R. raciborskii*. Thể tích sinh học *R. curvata* cho thấy sự biến động theo mùa, thấp vào những tháng mùa mưa (0,001-0,009 mm³/L) và cao hơn vào những tháng mùa khô (0,01-0,08 mm³/L).

Mặc dù cũng là loài có khả năng tạo CYN, *Raphidiopsis mediterranea* không xuất hiện thường xuyên, vắng mặt trong những tháng mùa mưa và chỉ hiện diện trong các tháng mùa khô với thể tích sinh học không đáng kể từ 0,006-0,016 mm³/L. Giá trị này cao dần vào những tháng cuối mùa khô.

Những loài thuộc chi *Microcystis* chỉ xuất hiện trong những tháng mùa khô với thể tích sinh học khá thấp, trong khoảng 0,006 – 0,043 mm³/L. Thể tích sinh học đạt giá trị cao vào giữa mùa khô.

Merismopedia tenuissima có mặt trong suốt 12 tháng nghiên cứu nhưng có thể tích sinh học nhỏ nhất trong quần xã VKL của hồ, dao động trong khoảng từ 0,003-0,013 mm³/L. Tương tự *Raphidiopsis, M. tenuissima* cũng biến động theo mùa, thấp vào những tháng mùa mưa và cao hơn vào những tháng mùa khô trong năm.

Như vậy, chúng tôi thấy rằng thể tích sinh học của 3 loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN (*R. raciborskii; R.curvata* và *R. mediterranea*) biến động theo mùa rõ rệt, thấp vào những tháng mùa mưa và cao hơn vào những tháng mùa khô (Hình 3.9). *3.2.1.2. Hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái*

Hàm lượng CYN trong các mẫu nước mặt lấy từ hồ Ea Nhái được phân tích bằng phương pháp ELISA. Kết quả ELISA cho thấy sự hiện diện của CYN trong tất cả các mẫu nước suốt 12 tháng nghiên cứu, từ tháng 5 năm 2019 đến tháng 4 năm 2020 với giá trị trung bình là $1,24 \pm 0,08 \mu g/L$. Nồng độ CYN cao hơn trong các tháng mùa khô (1,27- $1,34 \mu g/L$) và thấp hơn vào những tháng mùa mưa (1,01- $1,26 \mu g/L$) (Hình 3.9).

Phân tích tương quan Pearson cho thấy mối tương quan đáng kể giữa hàm lượng CYN và thể tích sinh học của 3 loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN (*R. raciborskii, R. curvata, R. mediterranea*) và loài *Lyngbya* sp. (p <0,01, p <0,01, p<0,01 và p<0,05, Bảng 3.3). Tuy nhiên, thể tích sinh học trung bình của 3 loài: *R. curvata, R. mediterranea* và *Lyngbya* sp. rất thấp, tương ứng 0,03; 0,006 và 0,61 mm³/L. Do đó, chúng tôi nghĩ rằng, loài *R. raciborskii* (lên tới 66,8 mm³/L) có thể là nguồn tạo CYN chủ yếu trong suốt thời gian nghiên cứu ở hồ Ea Nhái.

	R. raciborskii	R.mediterranea	R. curvata	Microcystis	M.tenuissima	<i>Lyngbya</i> sp.	CYN	
R. raciborskii	1							
R.mediterranea	0,905**	1						
R. curvata	0,842**	0,928**	1					
Microcystis	0,599**	0,687**	0,702**	1				
M.tenuissima	0,663**	0,704**	0,761**	0,230	1			
<i>Lyngbya</i> sp.	0,615**	0,686**	0,544**	0,806**	0,066	1		
CYN	0,596**	0,506**	0,438**	0,317	0,301	0,364*	1	

Bảng 3.3. Mối tương quan giữa thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái

**: Mức ý nghĩa 0,01 (2 phía)

*: Mức ý nghĩa 0,05 (2 phía)



Hình 3.9. Sự biến đổi theo mùa thể tích sinh học của R. raciborskii, R. curvata, R. mediterranea và hàm lượng CYN ở hồ Ea Nhái từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020

3.2.2. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong

3.2.2.1. Thể tích sinh học của các loài VKL hồ Buôn Phong

Trong hồ Buôn Phong, chúng tôi nhận thấy thể tích sinh học của các loài thuộc chi *Microcystis* chiếm tỉ lệ cao nhất trong quần xã VKL, trên 84% tổng thể tích sinh học VKL trong hồ. Nhóm loài này xuất hiện quanh năm trong hồ nghiên cứu với thể tích sinh học dao động trong khoảng 4,67-43,37 mm³/L, thấp trong những tháng mùa mưa và tăng mạnh vào những tháng mùa khô.

Tiếp đến là loài *R. raciborskii*, thể tích sinh học đạt giá trị từ 0,12-9,14 mm³/L, chiếm 11,9% tổng thể tích sinh học VKL. *R. raciborskii* xuất hiện quanh năm với thể tích sinh học thay đổi đáng kể theo mùa, thấp vào những tháng mùa mưa và cao hơn vào các tháng mùa khô (Hình 3.10). Sự nở hoa của *R. raciborskii* xảy ra trong những tháng mùa khô trong năm khi thể tích sinh học nằm trong khoảng từ 1,56 đến 9,14 mm³/L và đạt tới mức tối đa vào cuối mùa khô, 9,14 mm³/L.

Loài *Anabaena* sp.2 hiện diện quanh năm trong hồ chứa với thể tích sinh học thấp nhất hồ từ 0,08-3,16 mm³/L. Thể tích sinh học cho thấy sự biến động theo mùa, đạt giá trị thấp nhất vào tháng 6/2019 (đầu mùa mưa) và cao nhất vào tháng 1/2020 (giữa đầu mùa khô) (Hình 3.10).

3.2.2.2. Hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong

Kết quả phân tích ELISA cho thấy độc tố CYN trong nước hồ chứa hiện diện trong suốt 12 tháng nghiên cứu, dao động từ 0,04 - 0,72 μ g/L. Hàm lượng độc tố cũng cho thấy sự biến động theo mùa cao vào những tháng mùa khô và thấp hơn vào những tháng mùa mưa (Hình 3.10).

Từ hệ số tương quan Pearson, chúng tôi thấy rằng *R. raciborskii* có mối tương quan mạnh với hàm lượng CYN (p<0,01) trong hồ. Bên cạnh đó, loài *Anabaena* sp.2 cũng cho thấy mối tương quan với CYN khi p<0,05, yếu hơn so với mối tương quan giữa giữa *R. raciborskii* và CYN. Trái lại, các loài *Microcystis* spp. được biết đến là nhóm loài chính tạo độc tố gan microsystin (MC) không cho thấy mối tương quan nào với nồng độ độc tố CYN trong hồ (Bảng 3.4). Từ đó, chúng tôi nghĩ rằng, hàm lượng CYN trong hồ do 2 loài *R. raciborskii* và *Anabaena* sp.2 tạo ra nhưng có thể phần lớn là từ *R. raciborskii*.

	P raciborskii	Anghagna sp 2	Micrometic	Total	CYN
	<i>Κ. Ταςιδοτ</i> σκιι	Anabaena sp.2	Microcysus	Cyanobacteria	
R. raciborskii	1				
Anabaena sp.2	0,566**	1			
Microcystis	0,566**	0,717**	1		
Total	0 < 0 <**	0. 77 1**	0.005**	1	
Cyanobacteria	0,696	0,771	0,985	1	
CYN	0,538**	0,343*	0,301	0,377*	1

Bảng 3.4. Mối tương quan giữa thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong

**: Mức ý nghĩa 0,01 (2 phía)

*: Mức ý nghĩa 0,05 (2 phía)



Hình 3.10. Sự biến đổi theo mùa thể tích sinh học của R. raciborskii; Anabaena sp.2 và hàm hàm lượng CYN ở hồ Buôn Phong từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020

Dựa vào thể tích sinh học, trong cả hai hồ nghiên cứu đều ghi nhận sự nở hoa của loài *R. raciborskii*. Nở hoa *R. raciborskii* cũng xảy ra ở các hồ Waahi, Waikare và Whangape ở New Zealand với cường độ và tần suất khác nhau. Nở hoa ở hồ Waahi vào tháng 4 năm 2007 với thể tích sinh học đạt 4,5 mm³/L. Tại hồ Waikare, *R. raciborskii* đã hình thành các đợt nở hoa dày đặc vào mùa hè với đợt nở hoa nghiêm trọng nhất xảy ra vào tháng 2 năm 2011 và tháng 3 năm 2013 khi thể tích sinh học lần lượt đạt các giá trị 12,5 mm³/L và 7,4 mm³/L, trong khi *R. raciborskii* nở hoa thường xuyên và dày đặc nhất ở Hồ Whangap với thể tích sinh học đạt đỉnh là 144 mm³/L (Wood và cs., 2014). Tương tự, đợt nở hoa dày đặc cũng được quan sát thấy trong các ao cạn ở phía bắc Đài Loan, khi thể tích sinh học *R. raciborskii* đạt giá trị cao nhất là 102,5 mm³/L vào cuối tháng 9 năm 2009 (Yamamoto và Shiah, 2016). Dựa trên khảo sát theo mùa ở các hồ ở tỉnh Vân Nam, Trung Quốc, nơi *R. raciborskii* hình thành nở hoa ở Hồ Xihu tại một nhiệt độ nước thấp (10-15 °C) với thể tích sinh học nằm trong khoảng 0,01-42,44 mm³/L (Jia và cs., 2021).

Ở hồ Ea Nhái, chi *Raphidiopsis* (chủ yếu *R. raciborskii*) phát triển ưu thế hơn cả, gần như nở hoa thuần loài *R. raciborskii* xuyên suốt năm. Trong khi đó, những loài thuộc chi *Microcystis* (chủ yếu *M. aeruginosa*) chỉ hiện diện (không gây nở hoa) vào những tháng mùa khô với thể tích sinh học rất thấp. Như vậy, trong hồ Ea Nhái loài *R. raciborskii* có lợi thế cạnh tranh tốt hơn và gần như thay thế các loài *Microcystis* spp.. Trái lại, ở hồ Buôn Phong, những loài thuộc chi *Microcystis* lại chiếm ưu thế và gây nở hoa quanh năm với thể tích sinh học cao nhất. Tuy nhiên, loài *R. raciborskii* cũng cho thấy hiện diện quanh năm với thể tích sinh học khá cao và gây nở hoa vào những tháng mùa khô.

Sự đồng ưu thế của *R. raciborskii* với những loài *Microcystis* spp. trong hồ Buôn Phong cũng bắt gặp trong hồ chứa Mundaú khi *R. raciborskii* đồng xuất hiện cùng với loài thuộc chi *Microcystis (M. panniformis)*. Nhóm tác giả cho rằng, sự đồng xuất hiện của *R. raciborskii* và *M. panniformis* không phụ thuộc vào các điều kiện hóa lý trong hồ mà có thể phụ thuộc vào sự thích nghi về hình thái và sinh lý để tận dụng những thay đổi lý hóa trong cột nước của chúng. Loài này vẫn có thể sinh trưởng tốt trong điều kiện môi trường mà loài kia đang chiếm ưu thế, cho phép sự đồng xuất hiện của cả hai loài VKL (Moura và cs., 2015). Trái ngược với những phát hiện trên, một số nghiên cứu cho thấy sinh khối của *Microcystis* thay thế sinh khối *R. raciborskii* trong một số hệ sinh thái thủy sinh (Lei và cs., 2022). Tương tự, Vanderley và cs. (2022) cũng thấy rằng, *Raphidiopsis* và *Microcystis* hiếm khi đồng xuất hiện theo thời gian và sự chuyển đổi giữa chúng được thúc đẩy bởi độ trong suốt của nước. Sở dĩ những kết quả trái ngược nhau như vậy, có thể do sự biến đổi chủng bên trong những quần thể. Thật vậy, các thử nghiệm trong nghiên cứu của Lei và cs. (2022) cho thấy rằng có tồn tại sự biến đổi sinh lý giữa các chủng *M. aeruginosa* và do đó kết quả cạnh tranh giữa các chủng của loài *M. aeruginosa* và *R. raciborskii* rất khác nhau. Chủng *M. aeruginosa* FACHB905 là đối thủ cạnh tranh mạnh nhất và gần như loại trừ *R. raciborskii*, trong khi chủng *M. aeruginosa* FACHB905 là đối thủ

Bên cạnh những biến đổi nội đặc hiệu xảy ra trong các chủng, nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng nhiệt độ tăng cũng có thể thúc đẩy sự phát triển và mở rộng của loài *R. raciborskii* tốt hơn so với loài *M. aeruginosa*. Thật vậy, Thomas và Litchman (2016) đã cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng đáng kể đến sự cạnh tranh giữa loài *M. aeruginosa* và loài *R. raciborskii*. *M. aeruginosa* đã vượt qua *R. raciborskii* ở nhiệt độ 24 °C, trong khi *R. raciborskii* vẫn duy trì lợi thế ở nhiệt độ 32 °C. Kết quả này cho thấy nhiệt độ tăng có thể thúc đẩy sự phát triển của *R. raciborskii* tốt hơn. Tương tự, Xiao và cs. (2017b) cũng thấy rằng, chủng chiếm ưu thế trong cạnh tranh luôn là loài *M. aeruginosa* ở nhiệt độ 20 °C và *R. raciborskii* ở nhiệt độ 28 °C (Xiao và cs., 2017b).

Nồng độ CYN trong hồ Buôn Phong tương đối thấp, thấp hơn so với nồng độ CYN ở hồ Ea Nhái. Hàm lượng CYN được phát hiện trong hồ Ea Nhái cao hơn giá trị hướng dẫn về nước uống hàng ngày cho CYN là 0,7 μ g/L do Tổ chức Y tế thế giới đề xuất (Chorus và Welker, 2021). Trong khi đó, hàm lượng độc tố CYN trong hồ chứa Buôn Phong vẫn nằm trong ngưỡng cho phép đối với giá trị này. Tuy nhiên, sự hiện diện của độc tố CYN trong hai hồ chứa cho thấy những rủi ro tiềm ẩn của nguồn nước trong tương lai khi sử dụng cho mục đích uống, sinh hoạt, chăn nuôi và nuôi trồng thủy sản. Với nồng độ trung bình 1,24 μ g/L - CYN đo được trong hồ Ea Nhái có thể so sánh với giá trị 0,11-1,12 μ g/L được báo cáo từ sáu hồ ở Washington, Hoa Kỳ và 0-1,58 μ g/L được phát hiện ở sông Hương, Việt Nam nhưng vẫn cao hơn so với hồ Harris Chain, Florida; hồ Nero, Yaroslavl và hồ chứa Tai-Hu, Đài Loan với hàm lượng độc tố CYN tương ứng trong các hồ lần lượt là 0,05-0,2 μ g/L; 0,12-0,36 μ g/L và 0,14 μ g/L. Tuy nhiên, giá trị này thấp hơn nhiều so với hồ chứa đô thị cung cấp nước uống ở miền Nam Trung Quốc (8,25 μ g/L); hồ Gazan ở Ả Rập Saudi (4-173 μ g/L) và một nguồn cung cấp nước cho trang trại ở trung tâm Queensland nước Úc (1050 μ g/L) (Yang và cs., 2021).

Kết quả cho thấy, những loài thuộc chi *Raphidiopsis* chiếm ưu thế tuyệt đối trong hồ chứa Ea Nhái. Trong đó, *R. raciborskii* chiếm tỉ lệ cao nhất, tiếp đến là loài *Lyngbya* sp., loài *R. curvata*, những loài thuộc chi *Microcystis*, loài *R. mediterranea* và loài *Merismopedia tenuissima*. Trong khi đó, ở hồ Buôn Phong chi chiếm ưu thế tuyệt đối là *Microcystis*, trên 84% tổng thể tích sinh học VKL trong toàn hồ. Tiếp đến là loài *R. raciborskii* chiếm 11,9% tổng thể tích sinh học VKL và sau cùng loài *Anabaena* sp.2 chiếm 4,1% tổng thể tích sinh học VKL. Hàm lượng CYN trong hồ Ea Nhái (1,01 – 1,34 µg/L) cao hơn hàm lượng CYN trong hồ Buôn Phong (0,04 – 0,72 µg/L) và cao hơn giá trị hướng dẫn về nước uống hàng ngày cho CYN là 0,7 µg/L do Tổ chức Y tế Thế giới đề xuất. Mối tương quan đáng kể đã được tìm thấy giữa hàm lượng độc tố CYN và thể tích sinh học của 3 loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN: *R. raciborskii, R. curvata* và *R. mediterranea* (p <0,01, p <0,01 và p<0,01) trong hồ Ea Nhái. Tương tự, ở hồ Buôn Phong cũng cho thấy mối tương quan mạnh giữa hàm lượng độc tố CYN với loài có khả năng sinh độc tố CYN là *R. raciborskii* và loài *Anabaena* sp. 2 (p<0,01; p<0,05).

3.3. Khả năng sinh độc tố của các chủng tảo phân lập

3.3.1. Kết quả phân lập và nuôi cấy

Trong 72 mẫu thu từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020, chúng tôi phân lập được 24 chủng thuộc 8 loài: *R. raciborskii* (9 chủng), *R. curvata* (4 chủng), *R. mediterranea* (3 chủng) thuộc chi *Raphidiopsis; Anabaena* sp.2 (4 chủng) thuộc chi *Anabaena*; *Dolichospermum circinale* (1 chủng) thuộc chi *Dolichospermum; Planktolyngbya circumcreta* (2 chủng) thuộc chi *Planktolyngbya; Oscillatoria* sp.3 (1 chủng) thuộc chi *Oscillatoria* và *Lyngbya* sp. (1 chủng) thuộc chi *Lyngbya*. Tên chủng và nguồn gốc chủng được trình bày ở bảng 3.5.

STT	Loài	Chủng	Nguồn gốc
1	Dolichospermum circinale	AcBP2	Buôn Phong
2		ABP1	
3	Anabaena sp.2	ABP3	Duận Dhong
4		ABP8	- Buon Phong
5		ABP10	
6		CENG	_
7		CEN0	_
8		CEN7	Ea Nhái
9		CEN10	_
10	Raphidiopsis raciborskii	CEN11	
11		CBP2	_
12		CBP3	Buôn Phong
13		CBP4	_
14		CBP5	
15		RCEN0	_
16	Raphidionsis curvata	RCEN1	- Fa Nhái
17	Raphalopsis curvala	RCEN2	
18		RCEN3	
19	Ranhidionsis mediterranea	RMEN2	- Fa Nhái
20	Карнаюрыз тейнентакей	RMEN3	
21	<i>Lyngbya</i> sp.	LyEN2	Ea Nhái
22	Oscillatoria sp.3	OsBP1	Buôn Phong
23	Planktolyngbya	PLBP1	- Buôn Phong
24	circumcreta	PLBP4	Duon i nong

Bảng 3.5. Danh sách các chủng VKL phân lập từ hai hồ nghiên cứu

Hình thái các chủng VKL trong nuôi cấy

Các chủng CENG, CEN0, CEN7, CEN10, CEN11, CBP2, CBP3, CBP4 và CBP5 thuộc loài *Raphidiopsis raciborskii*

Sợi *Raphidiopsis raciborskii* mang đặc điểm của loài. Trong nuôi cấy, sợi *R. raciborskii* cũng trôi nổi tự do, hơi cong, thon dần về phía cuối sợi với các tế bào hình nón tròn. Tế bào sinh đưỡng dài 6-12,5 μ m, rộng 3-4,5 μ m. Hình thái tế bào dị hình thay đổi đa dạng trong cùng môi trường nuôi cấy và xuất hiện ở một hoặc cả hai đầu của sợi (Hình 3.11 a-i), dài 6-12 μ m, rộng 2,5-5,5 μ m. Bào tử nghỉ dài 8,5-20 μ m và rộng 4,5-5,5 μ m.

Chiều dài sợi biến đổi mạnh từ 50 µm cho đến hàng chục cm, bện lại với nhau thành đám. Các chủng ở hồ Buôn Phong (CBP2, CBP3, CBBP, CBP5) dài hơn các chủng ở hồ Ea Nhái. *R. raciborskii* đã được biết đến về hình thái tồn tại ở nhiều dạng (thẳng, cong, cuộn) trong môi trường tự nhiên. Tuy nhiên, các chủng phân lập được từ hai hồ nghiên cứu đều ở dạng thẳng. Nuôi cấy của các chủng đều có màu xanh lam đậm.

Các chủng RMEN2, RMEN3, RMEN8 thuộc loài Raphidiopsis mediterranea

Hình thái của các chủng đều giống nhau (Hình 3.12 a,b). Trong nuôi cấy, sợi trôi nổi tự do, hầu hết là thẳng đôi khi cong, không eo thắt tại vách tế bào, thon nhọn dần về cuối sợi với đỉnh sắc nhọn cả hai đầu. Các tế bào dinh dưỡng hình trụ, với nhiều không bào khí, dài từ 7,5-13 μm, rộng 3-5 μm. Bào tử nghỉ không được quan sát thấy trong tự nhiên và trong điều kiện nuôi cấy. Mẫu phân lập từ hồ Ea Nhái.

Các chủng RCEN0, RCEN1, RCEN2 và RCEN3 thuộc loài Raphidiopsis curvata

Trong nuôi cấy, sợi đơn độc, trôi nổi, hơi uốn cong, không eo thắt ở vách ngăn ngang tế bào, thuôn nhọn cả hai đầu sợi. Hình dạng sợi đa dạng từ cong cho đến lượn sóng (Hình 3.12 c,d). Tế bào đinh dưỡng hình trụ dài 7,5-15,5 µm, rộng 2-4,5 µm. Bào tử nghỉ hình ovan, dài 8-8,5 µm, rộng 2,5-3 µm, đơn độc. Nuôi cấy của các chủng có màu vàng xanh, tạo các mảng nổi, hình thái của các chủng đều giống nhau. Mẫu được phân lập từ hồ Ea Nhái.

Các chủng ABP1, ABP3, ABP8 và ABP10 thuộc loài Anabaena sp.2

Trong nuôi cấy, các tế bào sinh dưỡng có dạng hình cầu hoặc hình thùng ngắn với nhiều không bào khí, rộng 4,5-6 μm, dài bằng hoặc nhỏ hơn chiều rộng 4-5,5 μm.

Các tế bào dị hình có hình cầu và lớn hơn một chút so với các tế bào sinh dưỡng, đường kính 5-7 µm. Bào tử nghỉ hình ovan dài 8,5-21 µm, rộng 6-12 µm, thường nằm cách xa các tế bào dị hình, thỉnh thoảng chỉ cách dị bào một tế bào, đơn độc hoặc tồn tại thành từng cặp (Hình 3.12 e-i). Mẫu phân lập từ hồ Buôn Phong, hình thái của các chủng đều giống nhau.

Trong tự nhiên, loài tồn tại dạng sợi thẳng, đơn độc, trôi nổi tự do. Tế bào dinh dưỡng hình thùng dài 3-4,5 μm, rộng 4-6,5 μm. Tế bào dị hình hình cầu đường kính 6,5-7 μm. Bào tử nghỉ hình ovan dài 11,5-13 μm, rộng 8-10 μm.

Chủng AcBP2 thuộc loài Dolichospermum circinale

Trong mẫu nuôi cấy, sợi *Dolichospermum circinale* trong hồ Buôn Phong đơn độc, trôi nổi, cuộn hình xoắn ốc hoặc cuộn dạng lượn sóng (Hình 3.13 a,b). Tế bào dinh dưỡng hình thùng dài 4,5-6 µm, rộng 8-8,5 µm, tế bào dị hình cầu đường kính từ 6-7 µm, hơi to hơn tế bào sinh dưỡng, bào tử nghỉ hình ovan, cách xa tế bào dị hình, dài 13-14,5 µm, rộng 10-11 µm.

Chủng LyEN2 thuộc loài Lyngbya sp.

Sợi tảo dài, hơi cong đôi khi thẳng, rộng 9-10 µm. Vỏ bao dày, trong suốt, không màu. Mao tản hình trụ, màu xanh lam nhạt, rộng không eo thắt ở vách ngăn tế bào có hạt nhỏ, hẹp dần về phía đầu. Tế bào dài từ 2,5-3 µm, chứa nhiều hạt li ti, tế bào tận cùng tròn hoặc bán cầu, không bằng đầu, không có mũ, vách tế bào phía ngoài không dày lên (Hình 3.13 c-e). Loài được phân lập trong hồ Ea Nhái. Trong nuôi cấy loài tạo thành lớp màng đen, nhớt, bám vào đáy hoặc hai bên thành chai.

Chủng OsBP1 thuộc loài Oscillatoria sp.3

Trong nuôi cấy, mao tản thường thẳng, dài, ít khi cong, có màu lam đen, thường phát triển thành lớp màng dày, nhớt, rộng 12,5-15 µm, có lớp bao mỏng, không màu bao bên ngoài mao tản, hơi eo thắt tại vách ngăn tế bào có hạt, không hẹp về cuối sợi. Tế bào dài 4-5,5 µm, bên trong tế bào chứa nhiều hạt. Tế bào đỉnh lồi, tròn rộng, đôi khi có lớp mũ bên ngoài (Hình 3.13 h). Mẫu được phân lập từ hồ Ea Nhái.

Chủng PLBP1 và PLBP4 thuộc loài Planktolyngbya circumcreta

Trong nuôi cấy, sợi đơn độc có màu xanh lam hơi nhạt, rộng 2-2,5 µm, không eo thắt tại vách tế bào. Tế bào có dạng hình vuông, dài 1,8-2,5 µm, thỉnh thoảng chiều dài dài hơn chiều rộng (Hình 3.13 f,g). Tế bào đỉnh tròn, không có mũ. Nuôi cấy của các chủng lắng đáy có màu xanh lam, hình thái của các chủng đều giống nhau. Mẫu được phân lập từ hồ Buôn Phong.



Hình 3.11. Hình thái loài VKL *Raphidiopsis raciborskii* trong nuôi cấy *Kích thước 10 μm*



Hình 3.12. Hình thái các loài VKL a,b. Raphidiopsis mediterranea; c,d. Raphidiopsis curvata và e-i. Anabaena sp.2 trong nuôi cấy. Kích thước 10 μm



Hình 3.13. Hình thái các loài VKL a,b. Dolichospermum circinale; c-e. Lyngbya sp.; f,g. Planktolyngbya circumcreta; h. Oscillatoria sp.3 trong nuôi cấy. Kích thước 10 μm

3.3.2. Hàm lượng độc tố CYN trong các chủng phân lập

Để xác định danh tính của các loài VKL sản xuất CYN tiềm năng trong hai thủy vực nghiên cứu, các chủng VKL đã được phân lập thành công từ hai hồ chứa được kiểm tra hàm lượng độc tố CYN bằng phương pháp HPLC. Kết quả phân tích cho thấy, không phát hiện thấy độc tố CYN trong nuôi cấy các chủng thuộc các loài *Dolichospermum circinale, Planktolyngbya circumcreta, Lyngbya* sp. và *Oscillatoria* sp.3. Độc tố chỉ được phát hiện trong 17 chủng trên tổng số 19 chủng thuộc 4 loài có khả năng sinh độc tố: *Raphidiopsis raciborskii, Raphidiopsis curvata, Raphidiopsis mediterranea* và *Anabean*a sp.2 (Bảng 3.6).

Bảng 3.6. Hàm lượng độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập từ hai hồ nghiên cứu

STT	Chủng	Hàm lượng CYN (HPLC, μg/g DW)	STT	Chủng	Hàm lượng CYN (HPLC, μg/g DW)
1	AcBP2	không phát hiện	13	CBP4	0,345
2	ABP1	0,238	14	CBP5	0,019
3	ABP3	0,049	15	RCEN0	0,267
4	ABP8	0,045	16	RCEN1	0,314
5	ABP10	không phát hiện	17	RCEN2	0,172
6	CENG	0,234	18	RCEN3	không phát hiện
7	CEN0	0,504	19	RMEN2	0,584
8	CEN7	0,054	20	RMEN3	0,398
9	CEN10	0,444	21	LyEN2	không phát hiện
10	CEN11	0,017	22	OsBP1	không phát hiện
11	CBP2	0,029	23	PLBP1	không phát hiện
12	CBP3	0,016	24	PLBP2	không phát hiện

Từ bảng 3.6 cho thấy tất cả các chủng *R. raciborskii* được phân lập trong hai hồ chứa đều sinh độc tố CYN với hàm lượng khác nhau. Nồng độ CYN trong các chủng dao động từ 0,016 đến 0,504 µg/g DW. Trong số 4 chủng *Raphidiopsis curvata* phân lập được, có 3 chủng tạo độc tố và 1 chủng không tạo độc tố. Trong khi đó, cả hai chủng thuộc loài *Raphidiopsis mediterranea* (RMEN2, RMEN3) phân lập được trong hồ nghiên cứu đều tạo ra độc tố CYN. Đối với loài *Anabaena* sp.2, trong số 4 chủng phân lập được có 3 chủng tạo độc tố và 1 chủng không tạo độc tố. Hai chủng còn lại thuộc hai loài (*Lyngbya* sp. và *Oscillatotia* sp.3) có tiềm năng sinh độc tố CYN là LyEN2 và OsBP1 không xác định được độc tố bằng HPLC.

Đối với các chủng thuộc loài *R. raciborskii*, nồng độ cao nhất là 0,504 μg/g DW được ghi nhận ở chủng CEN0. Nồng độ này thấp hơn nhiều so với chủng *R. raciborskii* cyDB-1 ở Mỹ (0,85 mg/g), chủng *R. raciborskii* CY-Thai ở Thái Lan (1,2 mg/g DW), chủng *R. raciborskii* CHAB3438 ở Trung Quốc (2,6 mg/g) và chủng *R. raciborskii* QHSS/NR/Cyl/03 ở Australia (6,73 mg/g (LC/MS) (Yang và cs., 2021). Mặt khác, trong các nghiên cứu trước đây cũng đã ghi nhận một số chủng *R. raciborskii* được phân lập ở Châu Âu và Châu Phi không tạo ra độc tố CYN (Rzymsk và cs., 2018; Falfushynska và cs., 2018; Stefanova và cs., 2020). Willis và cs. (2016) đã chứng minh rằng có sự khác biệt đáng kể ở mỗi cá thể khi nghiên cứu sự biến đổi quần thể và độc tính của *R. raciborskii* ở hồ Wivenhoe, Úc. Tất cả các chủng được phân lập trong hồ nhỏ cũng cho thấy sự khác biệt về tốc độ tăng trưởng, hàm lượng độc tố và hình thái sợi (Willis và cs., 2016).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tất cả các chủng đều có khả năng tạo CYN nhưng hàm lượng độc tố ở các chủng là khác nhau. Sự khác biệt về hàm lượng độc tố trong các chủng có lẽ do sự khác biệt về số lượng, trình tự và tổ chức gen trong cấu trúc cụm gen sinh độc tố giữa các chủng khác nhau. Điều này có thể dẫn đến sự thay đổi độc tính ở các chủng này. Các chủng thuộc hai loài *Raphidiopsis curvata* và *Raphidiopsis mediterranea* hầu như tạo độc tố CYN. Trong khi đó các chủng *Raphidiopsis curvata* và *Raphidiopsis* và các chủng nào tạo độc này (Nguyen và cs., 2007). Hàm lượng độc tố cao nhất trong các chủng *Raphidiopsis curvata* là 0,314 µg/g DW và các chủng

Raphidiopsis mediterranea là 0,584 μg/g DW. Hàm lượng này thấp hơn so với 0,56 μg/g DW ở chủng *R. curvata* HB1, Trung Quốc; 1,7-2 mg/g DW cho chủng *R. curvata* CHAB1150, Trung Quốc và 917 μg/g DW được ghi nhận đối với chủng *R. mediterranea* FSS1-150/1, Úc (Yang và cs., 2021).

Nhìn chung, trong hai hồ nghiên cứu, hàm lượng độc tố trong các chủng ở những loài khác nhau thì khác nhau, cao nhất ở chủng RMEN2 thuộc loài *R. mediterranea* (0,584 µg/g trọng lượng khô) và thấp nhất ở chủng CBP3 thuộc loài *R. raciborskii* (0,016 µg/g trọng lượng khô). Bên cạnh đó, khả năng tạo độc tố của các chủng trong cùng một quần thể cũng khác nhau. Có chủng tạo độc tố CYN (RCEN0, RCEN1, RCEN2), có chủng không tạo độc tố CYN (RCEN3) và hàm lượng độc tố giữa các chủng không giống nhau (CENG, CEN0, CEN7, CEN10...).

3.3.3. Sự hiện diện của các gen liên quan đến sự tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL

Để xác định sự có mặt của các gen chịu trách nhiệm cho quá trình tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL tiềm năng, sự hiện diện hoặc sự vắng mặt của hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* đã được kiểm tra. Trong nghiên cứu này, 21 chủng của 6 loài VKL: *Raphidiopsis curvata, Raphidiopsis mediterannea, Raphidiopsis raciborskii, Anabea-na* sp.2, *Lyngbya* sp. và *Oscillatoria* sp.3 được phân tích bằng kỹ thuật PCR với hai cặp mồi đặc hiệu M4/M5 và M13/M14. Kết quả phân tích PCR phát hiện 15 chủng có một trong hai hay có cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Sáu chủng còn lại không xuất hiện cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Kết quả được trình bày ở hình 3.14; hình 3.15; hình 3.16; hình 3.17 và bảng 3.7.

Đối với phân đoạn gen *cyrB* trong các chủng phân lập, chúng tôi phát hiện sự hiện diện của phân đoạn gen này ở 14 trong tổng số 21 chủng nuôi cấy. Kích thước của các băng khoảng 600 bp phù hợp với kích thước của phân đoạn gen *cyrB (PS)* (Hình 3.14; hình 3.15). Trong số 14 chủng trên có 7 chủng thuộc loài *R. raciborskii* (CENG, CEN0, CEN7, CEN10, CEN11, CBP2 và CBP3); 3 chủng thuộc loài *R. curvata* (RCENO, RCEN1 và RCEN2); 2 chủng thuộc loài *Anabaena* sp.2 (ABP1 và ABP3) và 2 chủng thuộc loài *R. mediterannea* (RMEN2 và RMEN3).



Hình 3.14. Kết quả PCR khuếch đại gen cyrB (PS) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. M1. Thang chuẩn GeneRuler[™] 1 kb DNA Ladder; C. Control; 1. CENG; 2. CEN0; 3. CEN7; 4. CEN10; 5. CEN11; 6.
CBP2; 7. ABP10; 8. RCEN0; 9. RCEN1; 10. RCEN2; 11. ABP3; 12. ABP8; M2. Thang chuẩn ¢X174 RF DNA/Hae III Fragments



Hình 3.15. Kết quả PCR khuếch đại gen cyrB (PS) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. M. Thang chuẩn *ф*X174 RF DNA/Hae III Fragments; C. Control; 1. RMEN2; 2. RMEN3; 3. CBP3; 4. ABP1; 5. RCEN3; 6. CBP4; 7. CBP5; 8. OsBP1; 9. LyEN2

Trong tổng số 21 chủng nghiên cứu thì có 14 chủng có chứa phân đoạn gen *cyrC* (*PKS*). Kích thước của các băng khoảng 650 bp phù hợp với kích thước của phân đoạn gen *cyrC* (*PKS*) (Hình 3.16; hình 3.17). Trong số 14 chủng trên có 7 chủng thuộc loài *Raphidiopsis raciborskii* (CENG, CEN0, CEN7, CEN10, CEN11, CBP2 và CBP3), 4 chủng thuộc loài *Raphidiopsis curvata* (RCENO, RCEN1, RCEN2 và RCEN3), 2 chủng thuộc loài *Raphidiopsis mediterannea* (RMEN2 và RMEN3) và 1 chủng (ABP1) thuộc loài *Anabaena* sp.2.

Bên cạnh đó, kết quả phân tích PCR còn cho thấy 6 trong số 21 chủng không xuất hiện cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Sáu chủng này (ABP8, ABP10, CBP3, CBP4, LyEN2 và OsBP1) lần lượt thuộc bốn loài khác nhau: loài *Anabaena* sp.2, loài *Raphidiopsis raciborskii,* loài *Lyngbya* sp. và *loài Oscillatoria* sp.3.



Hình 3.16. Kết quả PCR khuếch đại gen cyrC (PKS) của các chủng VKL phân
lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. M1. Thang chuẩn ¢X174 RF DNA/Hae III.
Fragments; C. Control; 1. CENG; 2. CEN0; 3. CEN7; 4. CEN10; 5. CEN11; 6. CBP2;
7. ABP10; 8. RCEN0; 9. RCEN1; 10. RCEN2; 11. ABP3; 12. ABP8; M2. Thang chuẩn
GeneRuler[™] 1 kb DNA Ladder



Hình 3.17. Kết quả PCR khuếch đại gen cyrC (PKS) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. M. Thang chuẩn *φ*X174 RF DNA/Hae III Fragments; C. Control; 1. RMEN2; 2. RMEN3; 3. CBP3; 4. ABP1; 5. RCEN3; 6. CBP4; 7. CBP5; 8. OsBP1; 9. LyEN2

Như vậy, trong nghiên cứu của chúng tôi có chủng xuất hiện cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*, có chủng chỉ xuất hiện một trong hai phân đoạn gen và có chủng không xuất hiện cả hai phân đoạn gen này. Trong 21 chủng phân lập được từ hai hồ chứa thì có 13 chủng thuộc 4 loài (*Anabaena* sp.2, *Raphidiopsis curvata, Raphidiopsis mediterannea và Raphidiopsis raciborskii*) xuất hiện đồng thời cả 2 phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* (ABP1, RCEN0, RCEN1, RCEN2, RMEN2, RMEN3, CENG, CEN0, CEN7, CEN10, CEN11, CBP2, CBP3). Một chủng thuộc loài *Anabaena* sp.2 chỉ xuất hiện phân đoạn gen *cyrB* mà không thấy có sự hiện diện của phân đoạn gen *cyrC* (ABP3). Một chủng của loài *Raphidiopsis curvata* chỉ xuất hiện phân đoạn gen *cyrC* mà không thấy có sự hiện diện của phân đoạn gen *cyrB* (RCEN3). Khi phân tích 6 chủng thuộc 4 loài *Anabaena* sp.2; loài *Raphidiopsis raciborskii;* loài *Lyngbya* sp. và loài *Oscillatoria* sp.3 đều không cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* (ABP8, ABP10, CBP4, CBP5, LyEN2 và OsBP1).

STT	Chủng	<i>CyrB</i> M13/M14	CyrC M4/M5	STT	Chủng	<i>CyrB</i> M13/M14	CyrC M4/M5
1	ABP1	+	+	12	CEN0	+	+
2	ABP3	+	-	13	CEN7	+	+
3	ABP8	-	-	14	CEN10	+	+
4	ABP10	-	-	15	CEN11	+	+
5	RCEN0	+	+	16	CBP2	+	+
6	RCEN1	+	+	17	CBP3	+	+
7	RCEN2	+	+	18	CBP4	-	-
8	RCEN3	-	+	19	CBP5	-	-
9	RMEN2	+	+	20	LyEN2	-	-
10	RMEN3	+	+	21	OsBP1	-	-
11	CENG	+	+				

Bảng 3.7. Sự hiện diện của phân đoạn gen cyrB và cyrC trong các chủng VKL có khả năng sinh độc tố CYN

+: Có sự hiện diện của gen -: Không phát hiện gen

3.3.4. Mối tương quan giữa các gen tổng hợp độc tố và kết quả thăm dò độc tố CYN trong các chủng nuôi cấy

Để đánh giá sự phù hợp giữa sự xuất hiện một trong hai gen hay cả hai gen với khả năng sinh độc tố CYN, chúng tôi tìm hiểu mối tương quan giữa sự hiện diện của các gen liên quan đến quá trình sinh tổng hợp độc tố và hàm lượng độc tố. Mối tương quan giữa hàm lượng độc tố và gen qui định sinh tổng hợp độc tố CYN được thể hiện ở bảng 3.8.

Theo bảng 3.8 chúng tôi ghi nhận trong số 21 chủng của 6 loài *Raphidiopsis* raciborskii, *Raphidiopsis curvata, Raphidiopsis mediterrannea, Anabaena* sp.2, *Lyngbya* sp. và *Oscillatoria* sp.3 thì có 13 chủng độc cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Bốn chủng độc tiếp theo có 1 chủng (ABP3) chỉ xuất hiện phân đoạn gen *cyrB*; 3 chủng độc (ABP8, CBP4 và CBP5) còn lại vắng mặt cả hai phân đoạn gen này. Trong số 4 chủng không sinh độc tố, có 3 chủng (ABP10, LyEN2 và OsBP1) không xuất hiện cả hai phân đoạn gen *cyrC*, 1 chủng còn lại (RCEN3) cho thấy hiện diện phân đoạn gen *cyrC*.

Trong số 9 chủng thuộc loài *Raphidiopsis raciborskii*, có 5 chủng độc phân lập trong hồ Ea Nhái (CENG, CEN0, CEN7, CEN10 và CEN11) đều cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Trong khi đó, 4 chủng (CBP2, CBP3, CBP4 và CBP5) được phân lập ở hồ Buôn Phong mặc dù đều sinh độc tố nhưng chỉ có 2 chủng (CBP2 và CBP4) hiện diện cả hai phân đoạn gen, hai chủng (CBP3 và CBP5) còn lại vắng mặt cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*.

Đối với loài *Raphidiopsis curvata*, 3 chủng độc RCEN0, RCEN1 và RCEN2 đều xuất hiện cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Chủng còn lại (RCEN3) không xác định được hàm lượng độc tố nhưng lại chứa phân đoạn gen *cyrC*. Đối với loài *Raphidiopsis mediterrannea*, kết quả PCR cho thấy cả 2 chủng độc (RMEN2 và RMEN3) đều chứa hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*.

Ở loài *Anabaena* sp.2, có 1 chủng không xác định thấy hàm lượng độc tố và cũng không cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* (ABP10). Trong số 3 chủng tạo ra độc tố CYN (ABP1, ABP3 và ABP8), thì chủng độc ABP1 cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*, chủng độc ABP3 chỉ khuếch đại được phân đoạn gen *cyrB*. Chủng độc còn lại (ABP8) vắng mặt cả hai phân đoạn gen này.

Hai chủng LyEN2 và OsBP1 lần lượt thuộc 2 loài *Lyngbya* sp. và *Oscillatoria* sp.3 đều không cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Phân tích HPLC ở hai chủng này đều không phát hiện thấy độc tố CYN. Điều này hoàn toàn phù hợp giữa khả năng tạo độc tố và sự hiện diện của gen sinh độc tố.

Như vậy, trong nghiên cứu của chúng tôi, đa số các chủng cho thấy sự phù hợp giữa hàm lượng độc tố xác định được và sự hiện diện của các phân đoạn gen sinh tổng hợp độc tố. Tuy nhiên, cũng có chủng không xác định thấy độc tố nhưng cho thấy sự hiện diện của phân đoạn gen *cyrC* (RCEN3). Điều này có thể được giải thích do gen bất hoạt và các chủng này được xem là chủng có tiềm năng sinh độc tố. Kết quả tương tự cũng được quan sát thấy trong một số nghiên cứu trước đây. Các nghiên cứu này đã báo cáo các loài VKL không tạo độc tố CYN cũng chứa các phân đoạn gen *cyrA*, *cyrB* và *cyrC*. Nguyen và cs. (2007) đã cho thấy, trong số 20 chủng *Raphidiopsis raciborskii* phân lập từ các thủy vực nước ngọt ở Việt Nam thì có 6

chủng chứa phân đoạn gen *cyrB* (*PKS*), *cyrC* (*PS*) nhưng không phát hiện thấy độc tố CYN (Nguyen và cs., 2007). Tiếp đó, Bảy chủng thuộc loài *Chrysosporum bergii* Ostenfeld và hai chủng thuộc loài *Chrysosporum ovalisporum* Forti, được phân lập trong hồ Kinneret (Israel) không tạo ra độc tố CYN khi kiểm tra bằng ELISA và LC-MS/MS. Tuy nhiên, các phân đoạn gen *cyrA*, *cyrB* và *cyrC* đều có mặt trong tất cả các chủng trên (Ballot và cs., 2011). Tương tự, nghiên cứu của Hoff-Risseti và cs. (2013) cũng cho thấy, trong bốn chủng *Raphidiopsis raciborskii* không phát hiện thấy độc tố CYN, được phân lập từ thủy vực nước ngọt ở Brazil thì cả 4 chủng đều chứa gen *cyrA*, trong khi phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* chỉ được quan sát trong hai chủng (Hoff-Risseti và cs., 2013).

Bên canh đó, kết quả nghiên cứu của chúng tôi còn cho thấy sư xuất hiên một số chủng xác định thấy hàm lượng độc tố nhưng bị thiếu đi sản phẩm khuếch đại PCR của các phân đoạn gen cyrB, cyrC. Trong số bốn chủng độc thuộc hai loài Anabaena sp.2 và Raphidiopsis raciborskii (ABP3, ABP8, CBP4 và CBP5), chủng ABP3 cho thấy sự vắng mặt của phân đoạn gen cyrC (PS) và 3 chủng độc còn lại (ABP8, CBP4 và CBP5) cho thấy sư vắng mặt của cả hai phân đoan gen cyrB và cyrC. Chúng tôi nghĩ rằng, sư vắng mặt của một hoặc cả hai phân đoạn gen cyrB, *cyrC* trong các chủng độc này có thể do tồn tại lỗi bắt cặp tại vi trí bắt mồi của hại phân đoan gen cyrB, cyrC. Bên canh đó, chúng tôi cũng nghĩ rằng, những biến đổi di truyền xảy ra bên trong nhóm gen sinh độc tố này cũng có thể xuất hiện trong các chủng khác nhau thuộc cùng một loài nhưng được phân lập ở những vi trí thu mẫu khác nhau. Kết quả tương tự cũng được quan sát trong nghiên cứu của Tawong và cs. (2019) khi nhóm tác giả cho thấy thiếu sản phẩm PCR của gen cyrA trong bảy chủng Raphidiopsis raciborskii độc và thiếu sản phẩm PCR của gen cyrC trong một chủng Raphidiopsis raciborskii độc ở Thái Lan. Nhóm nghiên cứu cho rằng, sự vắng mặt của phân đoạn gen cyrA hoặc cyrC có thể là do không có gen hoặc tồn tại lỗi bắt cặp tại vi trí bắt mồi của hai gen này (Tawong và cs., 2019). Tương tự, sự vắng măt của phân đoan gen cyrB, cyrJ trong chủng độc Raphidiopsis raciborskii Boczowskie cũng xuất hiên trong các hồ ở Polish. Kết quả tương tư cũng được tìm thấy trong nghiên cứu của Wiedner và cs. (2007), nhóm tác giả thấy rằng mặc dù 4 chủng 10E6, 10E9, 22D11 và 30D11 của 2 loài *Aphanizomenon flos-aquae* và loài *Aphanizomenon* sp. đều tạo ra độc tố CYN nhưng khi kiểm tra sự hiện diện của các gen sinh độc tố thì chỉ các phân đoạn gen *PS* (*cyrB*) được khuếch đại trong tất cả các chủng, trong khi đó không thể khuếch đại các phân đoạn gen *PKS* (*cyrC*) trong bất kì chủng nào. Họ cho rằng, sự vắng mặt của các phân đoạn gen *PKS* (*cyrC*) trong các chủng độc cho thấy tổ chức cấu trúc của hệ thống sinh tổng hợp CYN có thể khác nhau giữa các loài sản xuất CYN khác nhau (Wiedner và cs., 2007). Thật vậy, Yilmaz và Philips (2011) đã quan sát thấy rằng mồi M5 không khớp với với tất cả các bazơ bên trong trình tự gen *cyrC* của loài *Aphanizomenon ovalisporum* và loài *Raphidiopsis raciborskii*. Do đó, mồi M5 được thay thế bằng mồi M5a (Yilmaz và Philps, 2011). Hơn thế nữa, Hoff-Risseti và cs. (2013) cũng nhận thấy rằng trình tự *cyrA* trong chủng *Raphidiopsis raciborskii* T3 bị mất hai nucleotide ở các vị trí 525 và 1054 so với trình tự chuẩn, gây ra đột biến lệch khung và một mồi mới dành riêng cho *cyrA* nên được phát triển (Hoff-Risseti và cs., 2013).

Chúng tôi nghĩ rằng, những biến đổi di truyền xuất hiên trong nhóm gen tổng hợp CYN nên được chú ý, để từ đó chúng ta có thể thiết kế thêm những cặp mồi đặc hiệu dành riêng cho từng chủng, từng loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN. Ngoài hai gen *cyrB* và *cyrC*, tham gia vào quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN là cum gen cyr gồm 15 gen từ gen cyrA đến gen cyrO, mỗi gen thực hiên chức năng riêng biệt. Trong đó gen *cyrA* tham gia khởi đầu cho quá trình tổng hợp độc tố, gen *cyrJ* xúc tác cho quá trình sulfat hóa và hoàn thiện cấu trúc độc tố CYN. Trong nhiều nghiên cứu, cyrJ được xem như chỉ thị di truyền hữu hiệu trong việc sàng lọc, xác định chính xác các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong các mẫu nuôi cấy và mẫu môi trường. Thật vậy, trong các nghiên cứu trước đây cho thấy, những chủng không tạo độc tố từ loài Chrysoporum ovalisporum và loài Anabaena bergii được phân lập từ hồ Kinneret (Israel) cho thấy sư hiện diện đầy đủ của các phân đoạn gen *cyrA*, *cyrB*, *cyrC* nhưng lại thiếu phân đoạn gen *cyrJ* và phân đoạn gen *cyrJ* chỉ hiện trong những chủng VKL sinh độc tố CYN (Tawong và cs., 2019; Yang và cs., 2021). Vì vậy, ngoài hai gen cyrB (PKS), cyrC (PS) nên sử dụng nhiều gen hơn nữa trong cum gen *cyr* khi xác đinh khả năng sản sinh độc tố của các loài VKL sẽ mang lai kết quả chính xác hơn.

STT	Chủng	CyrB/ CyrC	Hàm lượng độc tố CYN (µg/g DW)	STT	Chủng	CyrB/ CyrC	Hàm lượng độc tố CYN (µg/g DW)
1	ABP1	+/+	0,238	12	CEN0	+/+	0,504
2	ABP3	+/-	0,049	13	CEN7	+/+	0,054
3	ABP8	-/-	0,045	14	CEN10	+/+	0,444
4	ABP10	-/-	-	15	CEN11	+/+	0,017
5	RCEN0	+/+	0,267	16	CBP2	+/+	0,029
6	RCEN1	+/+	0,314	17	CBP3	+/+	0,016
7	RCEN2	+/+	0,172	18	CBP4	-/-	0,345
8	RCEN3	-/ +	-	19	CBP5	-/-	0,019
9	RMEN2	+/+	0,548	20	LyEN2	-/-	-
10	RMEN3	+/+	0,398	21	OsBP1	-/-	-
11	CENG	+/+	0,234				

Bảng 3.8. Hàm lượng độc tố CYN và sự hiện diện các phân đoạn gen liên quan đến sự sinh độc tố CYN ở các chủng VKL phân lập

+: Có sự hiện diện của gen -: Không phát hiện gen

Như vậy, dựa trên kết quả phân tích hàm lượng độc tố và sự hiện diện của phân đoạn gen sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng thuộc 8 loài VKL phân lập được, chúng tôi đã xác định được 4 loài VKL (*Raphidiopsis raciborskii, Raphidiopsis curvata, Raphidiopsis mediterrannea* và *Anabaena* sp.2) có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ nghiên cứu. Trong đó, hồ Ea Nhái có 3 loài: *Raphidiopsis raciborskii, Raphidiopsis curvata, Raphidiopsis mediterrannea* và hồ Buôn Phong có 2 loài: *Raphidiopsis*
raciborskii, Anabaena sp.2. Sự hiện diện của bốn loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ chứa nghiên cứu cho thấy nguy cơ cao ô nhiễm độc tố CYN bên trong nguồn nước của hai hồ này. Vì vậy, việc xác định những yếu tố môi trường chủ đạo điều khiển quá trình sinh trưởng và phát triển của chúng là cơ sở để kiểm soát và kiềm chế sự phát triển bùng phát, hạn chế hiện tượng nở hoa của nhóm loài này, góp phần đảm bảo an toàn nguồn nước bên trong hai hồ nghiên cứu.

3.4. Ánh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thế tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong

3.4.1. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái

3.4.1.1. Các thông số môi trường trong hồ Ea Nhái

Các đặc điểm lý hóa của hồ Ea Nhái từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 được trình bày trong bảng 3.9. Nhiệt độ nước dao động từ 25,5 °C đến 32,0 °C với giá trị trung bình là 29,0 °C trong thời gian điều tra. Các giá trị pH thay đổi từ tối thiểu là 7,1 đến tối đa là 8,3 và không có sự khác biệt đáng kể giữa các tháng trong năm. Giá trị độ đục (NTU) cao hơn được ghi nhận trong thời kỳ mùa mưa (tháng 5 đến tháng 10). Nồng độ trung bình của amoni (N-NH4) và nitrat (N-NO₃) trong nghiên cứu lần lượt là 0,23 \pm 0,05 mg/L và 0,21 \pm 0,08 mg/L. Nồng độ amoni (N-NH4) thấp hơn được tìm thấy trong thời kỳ mùa mưa so với mùa khô. Trong khi đó, không có sự thay đổi rõ ràng theo mùa về nồng độ nitrat (N-NO₃). Nồng độ orthophosphat-P (P-PO₄) hòa tan thay đổi từ 0,06 đến 0,1 mg/L.

Nông độ TP trung bình dao động trong khoảng từ 0,16 - 0,4 mg/L và nồng độ TN trung bình dao động trong khoảng từ 1,4 - 3,67 mg/L. Tỷ lệ TN/TP hàng tháng dao động từ 13,9:1 đến 35:1 với giá trị trung bình của nghiên cứu là 22,3. Những hoạt động nông nghiệp trong lưu vực cùng với hoạt động nuôi cá lồng bè thâm canh bên trong hồ, dường như là nguồn chính để làm giàu chất dinh dưỡng bên trong hồ Ea Nhái. Theo phân loại nhiệt đới do Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế đề xuất (OECD, 1982), chất lượng nước của hồ Ea Nhái được phân loại là hồ phú dưỡng (dựa trên giá trị TP).

	Temp.		Turbidity	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР	
Thang	(⁰ C)	рН	(NTU)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	
5/2010	25.33	8.34	48.73	0.15	0.29	0.07	1.86	0.17	
5/2019	(25-25.5)	(8.11-8.71)	(45.8-50.9)	(0.14-0.16)	(0.27-0.32)	(0.066-0.075)	(1.85-1.87)	(0.15-0.2)	
6/2019	25.97	8	52.63	0.11	0.2	0.06	1.76	0.18	
0/201/	(25.9-26.1)	(7.92-8.07)	(49.5-56)	(0.11-0.11)	(0.2-0.21)	(0.063-0.065)	(1.68-1.85)	(0.176-0.1885)	
7/2019	27.5	8.09	62.73	0.14	0.22	0.06	1.38	0.16	
	(27-28)	(8.01-8.15)	(53.2-77.1)	(0.104-0.182)	(0.196-0.252)	(0.059-0.064)	(1.28-1.54)	(0.154-0.171)	
8/2019	28.17	8.25	66.73	0.21	0.24	0.1	2.55	0.4	
0/2012	(28-28.5)	(8.21-8.3)	(61.2-70.5)	(0.196-0.235)	(0.219-0.28)	(0.094-0.099)	(2.34-2.76)	(0.395-0.408)	
9/2019	28.33	7.72	74.17	0.16	0.2	0.1	1.65	0.22	
//=01/	(28-29)	(7.62-7.81)	(56.2-100)	(0.154-0.168)	(0.196-0.203)	(0.092-0.102)	(1.61-1.68)	(0.218-0.226)	
10/2019	30.17	7.94	44.2	0.18	0.36	0.1	2.1	0.22	
10/201/	(30-30.5)	(7.9-7.98)	(41.9-47.5)	(0.18-0.184)	(0.355-0.359)	(0.099-0.104)	(1.96-2.24)	(0.206-0.233)	
11/2019	29.73	7.97	52.83	0.2	0.17	0.1	2.16	0.25	
11/201/	(29.2-30.1)	(7.92-8)	(50.6-55)	(0.195-0.2)	(0.163-0.17)	(0.092-0.103)	(2.04-2.34)	(0.233-0.261)	
12/2019	31.4	8.05	39.08	0.15	0.22	0.09	2.96	0.26	
12/201/	(31.3-31.6)	(8-8.1)	(38.52-40.15)	(0.148-0.162)	(0.21-0.231)	(0.089-0.097)	(2.82-3.07)	(0.255-0.268)	
01/2020	29.3	7.14	37.49	0.17	0.26	0.09	3.43	0.21	
01/2020	(29-29.7)	(7.09-7.23)	(36.17-39.08)	(0.159-0.182)	(0.245-0.275)	(0.088-0.092)	(3.31-3.53)	(0.203-0.221)	
02/2020	32	8.25	39.51	0.29	0.27	0.1	2.92	0.29	
02/2020	(30-34)	(8.2-8.31)	(38.79-40.63)	(0.29-0.294)	(0.261-0.282)	(0.091-0.116)	(2.86-2.98)	(0.282-0.304)	
03/2020	28.83	8.18	40.14	0.38	0.19	0.11	3.67	0.35	
03/2020	(28.7-29)	(8.01-8.3)	(40.06-40.24)	(0.361-0.392)	(0.19-0.198)	(0.103-0.114)	(3.5-3.75)	(0.321-0.372)	
04/2020	31.73	8.29	40.09	0.36	0.18	0.1	3.51	0.28	
	(31.7-31.8)	(8.27-8.3)	(40.06-40.11)	(0.36-0.368)	(0.179-0.182)	(0.098-0.102)	(3.46-3.56)	(0.279-0.281)	

Bảng 3.9. Các thông số môi trường hồ Ea Nhái từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 (giá trị trung bình và giá trị min – max)

Ghi chú: Temp.: Nhiệt độ; Turbidity: Độ đục.

3.4.1.2. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái.

Phân tích thành phần chính (PCA) và phân tích tương quan Pearson cho thấy mối tương quan giữa những loài VKL độc và các yếu tố môi trường trong hồ Ea Nhái. Các thông số phi sinh học (CYN, Temp., N-NH₄, P-PO₄, TN và TP) có tương quan đáng kể với thể tích sinh học của *R. raciborskii* (R = 0,60, p <0,01; R = 0,66, p <0,01; R = 0,73, p <0,01; R = 0,65, p <0,05, R = 0,84, p <0,01; R = 0,34, p <0,01). Bên cạnh đó, thể tích sinh học của *R. curvata*, *R. mediterranea* cũng cho thấy mối tương quan với các biến số phi sinh học (CYN, Temp., N-NH₄, P-PO₄, TN, TP) (Hình 3.18, bảng 3.10).

	Temp.	рН	N-NH4	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР	Turbidity	R. raciborskii K	. mediterranea	R. curvata	Total	CYN
Tomp	1											Cyanobacteria	1
remp.	1												
pH	-0,012	1											
N-NH4	0,518**	0,349*	1										
N-NO ₃	-0,008	-0,057	-0,195	1									
P-PO ₄	0,672**	-0,013	0,666**	0,043	1								
TN	0,582**	-0,070	0,749**	-0,090	0,634**	1							
ТР	$0,376^{*}$	0,299	0,637**	-0,134	0,677**	0,585**	1						
Turbidity	-0,444**	0,039	-0,373*	-0,181	-0,233	-0,620**	-0,047	1					
R. raciborskii	0,662**	-0,134	0,729**	-0,110	0,648**	0,844**	0,343*	-0,615**	1				
R. mediterranea	0,612**	0,069	0,796**	-0,274	0,563**	0,857**	0,427**	-0,614**	0,905**	1			
R. curvata	0,494**	0,170	0,909**	-0,223	0,576**	0,796**	0,452**	-0,504**	0,842**	0,928**	1		
Total Cyanobacteria	0,664**	-0,136	0,728**	-0,108	0,650**	0,848**	0,347*	-0,619**	1^{**}	0,909**	0,843**	1	
CYN	0,698**	-0,099	0,474**	-0,199	0,515**	0,492**	0,356*	-0,298	0,596**	0,506**	0,438**	0,596**	1

Bảng 3.10. Mối tương quan Pearson giữa thể tích sinh học của những loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN và các yếu tố môi trường ở hồ Ea Nhái từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020

*: Tương quan ở mức ý nghĩa 0,05.

**: Tương quan ở mức ý nghĩa 0,01.



Hình 3.18. Phân tích thành phần chính (PCA) dựa trên các yếu tố sinh học và phi sinh học trong thời kì từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ Ea Nhái

3.4.2. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong

3.4.2.1. Các thông số môi trường trong hồ Buôn Phong

Kết quả nghiên cứu các yếu tố môi trường từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 của hồ Buôn Phong được thể hiện trong bảng 3.11. Nhiệt độ nước thay đổi theo mùa và các giá trị cao hơn được ghi nhận vào mùa khô, dao động từ 25,8 °C - 32,2 °C, trong khi nhiệt độ trung bình là 28,4 °C. Giá trị pH dao động từ 6,7 - 7,7 và không có sự khác biệt đáng kể theo mùa trong thời gian nghiên cứu. Độ đục (NTU) dao động từ 15,1 - 33,0 NTU và các giá trị đo được vào mùa mưa cao hơn mùa khô. Nồng độ amoni (N-NH₄) không có sự khác biệt rõ ràng theo mùa, thay đổi nhẹ từ 0,1 đến 0,26 mg/L. Giá trị thấp nhất của nồng độ nitrat (N-NO₃) là 0,09 mg/L vào mùa khô, trong khi giá trị cao nhất là 0,27 mg/L vào mùa mưa. Nồng độ

orthophosphat-P hòa tan (P-PO₄) thay đổi từ 0,05 đến 0,09 mg/L. Nồng độ trung bình của tổng nitơ (TN) dao động trong khoảng từ 1,05 - 2,56 mg/L, cao hơn giá trị tổng phốt pho (TP), dao động trong khoảng 0,09 - 0,31 mg/L.

Dựa trên nồng độ trung bình của tổng phốt pho (TP), chất lượng nước của hồ Buôn Phong được xếp vào loại phú dưỡng (OECD, 1982). Hoạt động canh tác nông nghiệp trong lưu vực và hoạt động chăn nuôi gia súc của các hộ dân cư là nguồn ô nhiễm chính gây ra tình trạng phú dưỡng trong nước hồ.

		-			-	-			
Tháng	Temp.	лU	Turbidity	N-NH4	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	TP	
Thang	(⁰ C)	рп	(NTU) (mg/L)		(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	
5/2010	26.87	7.57	23.59	0.23	0.1	0.08	2.34	0.22	
5/2019	(26.7 - 27.1)	(7.52 - 7.61)	(23.47 - 23.78)	(0.229 - 0.232)	(0.099 - 0.107)	(0.079 - 0.088)	(2.31 - 2.38)	(0.21 - 0.226)	
6/2019	26.83	6.71	21.37	0.19	0.09	0.07	2	0.19	
	(26.5 - 27)	(6.65 - 6.77)	(21.22 - 21.5)	(0.182 - 0.193)	(0.088 - 0.091)	(0.064 - 0.068)	(1.98 - 2.03)	(0.174 - 0.189)	
7/2019	25.83	7.62	20.87	0.11	0.24	0.05	1.47	0.17	
	(25.5 - 26)	(7.52 - 7.7)	(19.3 - 22.8)	(0.11 - 0.12)	(0.22 - 0.26)	(0.045 - 0.053)	(1.4 - 1.56)	(0.163 - 0.182)	
8/2019	27.83	7.63	22.80	0.1	0.14	0.06	1.40	0.13	
	(27.5 - 28)	(7.5 - 7.7)	(21 - 24)	(0.084 - 0.112)	(0.141 - 0.145)	(0.056 - 0.065)	(1.29 - 1.52)	(0.124 - 0.137)	
9/2019	27.33	7.43	33	0.14	0.27	0.06	1.12	0.31	
	(27 - 27.5)	(7.3 - 7.58)	(28.1 - 42.3)	(0.126 - 0.14)	(0.238 - 0.294)	(0.056 - 0.06)	(1.17 - 1.19)	(0.3 - 0.327)	
10/2019	26.67	6.75	32.7	0.14	0.21	0.08	1.33	0.13	
	(26.5 - 27)	(6.71 - 6.8)	(28 - 37.5)	(0.137 - 0.146)	(0.207 - 0.216)	(0.078 - 0.079)	(1.32 - 1.33)	(0.128 - 0.132)	
11/2019	27.83	6.81	20.5	0.1	0.19	0.09	1.33	0.13	
	(27.5 - 28)	(6.79 - 6.83)	(17 - 24.4)	(0.095 - 0.106)	(0.187 - 0.193)	(0.09 - 0.094)	(1.26 - 1.4)	(0.123 - 0.127)	
12/2019	28.83	7.06	15.07	0.14	0.12	0.09	1.23	0.12	
	(28.5 - 29)	(7.01 - 7.1)	(12.6 - 17.5)	(0.135 - 0.148)	(0.117 - 0.12)	(0.086 - 0.093)	(1.18 - 1.29)	(0.098 - 0.138)	
01/2020	32.17	6.97	23.24	0.13	0.17	0.07	1.32	0.13	
01/2020	(32.1 - 32.2)	(6.92 - 7.01)	(22.91 - 23.7)	(0.12 - 0.135)	(0.168 - 0.175)	(0.061 - 0.073)	(1.27 - 1.38)	(0.12 - 0.134)	
02/2020	30.9	6.66	21.36	0.14	0.17	0.06	1.35	0.09	
02/2020	(30.8 - 31)	(6.61 - 6.7)	(20.93 - 22.01)	(0.137 - 0.141)	(0.158 - 0.177)	(0.052 - 0.064)	(1.23 - 1.42)	(0.087 - 0.096)	
02/2020	31.37	7.70	23.49	0.13	0.11	0.08	1.05	0.14	
03/2020	(31.2 - 31.5)	(7.63 - 7.78)	(23.38 - 23.7)	(0.126 - 0.134)	(0.103 - 0.117)	(0.072 - 0.091)	(1.03 - 1.09)	(0.128 - 0.149)	
04/2020	27.93	7.46	22.8	0.26	0.1	0.09	2.56	0.25	
04/2020	(27.3 - 28.3)	(7.4 - 7.5)	(22.29 - 23.1)	(0.237 - 0.282)	(0.098 - 0.105)	(0.081 - 0.089)	(2.37 - 2.8)	(0.231 - 0.264)	

Bảng 3.11. Các thông số môi trường hồ Buôn Phong từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 (giá trị trung bình và giá trị min –max)

Ghi chú: Temp.: Nhiệt độ; Turbidity: Độ đục.

3.4.2.2. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong

Để xác định mức độ ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến thể tích sinh học của hai loài VKL có khả năng sinh độc tố *R. raciborskii* và *Anabaena* sp.2 trong thời gian nghiên cứu từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ Buôn Phong, chúng tôi đã sử dụng phân tích PCA và phân tích Pearson để đánh giá. Kết quả cho thấy thể tích sinh học của *R. raciborskii* có tương quan thuận với các biến số phi sinh học như nhiệt độ, N-NH₄, P-PO₄ và CYN (R = 0,45, p <0,01; R = 0,46, p <0,01; R = 0,35, p <0,05; R=0,54, p<0,01). Bên cạnh đó, sự tương quan của giữa nhiệt độ với thể tích sinh học của *Anabaena* sp.2 cũng được quan sát thấy trong hồ Buôn Phong (Hình 3.19, bảng 3.12).



Hình 3.19. Phân tích thành phần chính (PCA) dựa trên các yếu tố sinh học và phi sinh học trong thời kì từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ Buôn Phong

	Tomm	NTI	II	N NH.	N NO-	D DO.	TN	тр	R. raciborskii	Anabaena sp.2	Total	CVN
	remp.	NIU	рп	19-19114	11-1103	F-F O4	119	11			Cyanobacteria	0111
Temp.	1											
NTU	-0,176	1										
рН	-0,135	0,051	1									
N-NH4	-0,188	0,003	0,112	1								
N-NO3	-0,227	0,475**	-0,049	-0,546**	1							
P-PO4	0,066	-0,193	-0,059	0,313	-0,482**	1						
TN	-0,378*	-0,102	0,129	0,877**	-0,508**	0,190	1					
TP	-0,447**	0,439**	0,434**	0,497**	0,186	-0,093	0,429**	1				
R. raciborskii	0,445**	-0,138	0,136	0,462**	-0,412*	0,347*	0,286	0,043	1			
Anabaena sp.2	0,867**	-0,119	0,011	0,048	-0,249	0,095	-0,131	-0,248	0,566**	1		
Total Cyanobacteria	0,795**	-0,195	-0,056	0,057	-0,340*	0,176	-0,175	-0,308	0,696**	0,771**	1	
CYN	0,300	-0,154	0,038	0,115	-0,047	-0,140	0,081	0,056	0,538**	0,343*	$0,377^{*}$	1

Bảng 3.12. Mối tương quan Pearson giữa thể tích sinh học của những loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN và các yếu tố môi trường ở hồ Buôn Phong từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020

*: Tương quan ở mức ý nghĩa 0,05.

**: Tương quan ở mức ý nghĩa 0,01.

Trong quần xã VKL hồ Ea Nhái, thể tích sinh học của *R. curvata* và *R. mediterranea* chiếm tỉ lệ rất nhỏ, lần lượt là 0,08% và 0,02%. Vì vậy, chúng tôi nghĩ rằng *R. raciborskii* có thể là nguồn chính sinh ra độc tố CYN trong nước hồ Ea Nhái. Tương tự, ở hồ Buôn Phong *R. raciborskii* cũng được xem là loài chính sinh độc tố CYN trong nước hồ khi thể tích sinh học loài *Anabaena* sp.2 chiếm tỉ lệ rất nhỏ, khoảng 4,1%. Vì vậy, giám sát và đánh giá biến động quần thể của loài *R. raciborskii* trong cả hai hồ là cơ sở để đưa ra một chương trình giám sát sinh học hiệu quả.

Sự sinh sôi của VKL thường chiu sự tác động tổng hợp của nhiều vếu tố sinh thái thay vì một yếu tố sinh thái duy nhất. Các cuộc điều tra ngoài thực địa và trong phòng thí nghiệm đã phát hiện ra rằng sự phong phú của *R. raciborskii* có thể bị ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường như ánh sáng, nhiệt độ và chất dinh dưỡng (Burford và cs., 2016; Pagni và cs., 2020). Trong nghiên cứu của chúng tôi, nhiệt độ có tương quan thuân với thể tích sinh học *R. raciborskii* trong cả hai hồ. Kết quả cho thấy nhiệt đô nước cao kích thích sư phát triển của R. raciborskii. Kết quả tương tư cũng được tìm thấy trong các nghiên cứu trước đây (Nguyen và cs., 2017; Kokocinski và cs., 2017). Cho đến nay, R. raciborskii đã xâm chiếm thành công nhiều thủy vực từ nhiệt đới, cân nhiệt đới đến ôn đới. Các nghiên cứu trong phòng thí nghiêm đã chỉ ra rằng nhiệt đô tối ưu cho sư sinh trưởng của R. raciborskii từ 25 °C đến 35 °C. Thông thường, chúng hình thành sư nở hoa ở nhiệt đô lớn hơn 25 °C (Kokocinski và cs., 2017; Jia và cs., 2020). Nhiệt đô trong hai hồ nghiên cứu dao đông từ 25,5 °C đến 32 °C. Nở hoa của *R. raciborskii* trong hồ Ea Nhái xảy ra vào thời điểm giao mùa và mùa khô trong năm (3,74 – 66,83 mm³/L), trong khi nở hoa *R. raciborskii* hồ Buôn Phong chỉ xảy ra vào mùa khô (1,56-9,14 mm³/L). Sự nở hoa dày đặc của loài này cũng đã được quan sát vào mùa hè ở Hồ Waikare (Wood và cs., 2014) và trong một ao cạn ở Pháp (Briand và cs., 2002). Wener và cs. (2020) cũng phát hiện ra rằng các đợt nở hoa của *R. raciborskii* tạo thành các vệt màu vàng trên bề mặt ở nhiệt độ từ 12,6 - 15,5 °C nhưng sinh khối của nó vẫn đat giá tri tối đa vào cuối mùa hè khi nhiệt đô ở 26,6 °C. Tuy nhiên, sư nở hoa của loài này cũng được quan sát thấy vào mùa đông ở các hồ và đâp ở Bắc Đài Loan; Uruguay và Rio Grande do Sul khi nhiệt đô lần lượt là 16,3 °C; 11,2 °C và 11 °C (Fabre và cs., 2010; Yamamoto và cs., 2012; Wener và cs., 2020). Những kết quả trái ngược liên quan đến tác động của nhiệt độ lên *R. raciborskii* dường như có liên quan đến sự xuất hiện của các kiểu sinh thái khác nhau trong quần thể *R. raciborskii* cùng với tính linh động về kiểu hình khi phản ứng với các yếu tố môi trường. Hơn nữa, khí hậu ấm lên được coi là một động lực quan trọng giúp tăng cường sự mở rộng của loài này sang các khu vực mới.

Nito (N) và phốt pho (P) đã được chứng minh là có ảnh hưởng đến sư ưu thế của R. raciborskii trong các hê thống nước ngọt (Mohamed và cs., 2018). Một số nghiên cứu cho rằng R. raciborskii có thể chiếm ưu thế ở cả điều kiên nitơ, phốt pho thấp và cao (Burford và cs., 2016, 2018; Xiao và cs., 2020; Wener và cs., 2020). Biến số phi sinh học đóng một vai trò quan trọng và có ảnh hưởng đáng kể đến thể tích sinh học của *R. raciborskii* trong hồ Ea Nhái là nitơ, phốt pho ở dạng hòa tan và dạng tổng số. Tương tự hồ Ea Nhái, mối tương quan thuận giữa R. raciborskii với nito, phốt pho dạng hòa tan trong hồ Buôn Phong cũng đã được quan sát thấy. R. raciborskii được phát hiện chiếm ưu thế khi nồng độ TP và TN cao (Nguyen và cs., 2017; Xiao và cs., 2020). Môt nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng đô pH cao tao điều kiên thuân lợi cho việc giải phóng phốt pho từ trầm tích, cung cấp nguồn phốt pho cho sự phong phú của R. raciborskii ở Dongqian, Trung Quốc (Li và cs., 2020). Như đã đề câp bởi Posselt và cs. (2009), việc bổ sung photphat vô cơ hòa tan (DIP) trong các thí nghiêm thực địa tại hồ chứa cân nhiệt đới ở Queensland, Úc cũng đã thúc đẩy sư ưu thế của R. raciborskii. Tuy nhiên, kết quả ngược lại được đưa ra trong các nghiên cứu khác khi cho rằng R. raciborskii vẫn chiếm ưu thế trong các hồ chứa giới hạn phốt pho (Burford và cs., 2018; Prentice và cs., 2019). Điều này có thể do chúng có ái lực cao, khả năng hấp thụ và khả năng dự trữ cao đối với phốt pho, cho phép chúng cạnh tranh với các loài VKL và thực vật phù du nhân chuẩn khác (Burford và cs., 2016; Xiao và cs., 2020).

Trong nghiên cứu này, nồng độ amoni (N-NH₄) có tương quan thuận với *R. raciborskii*. N-NH₄ được coi là nguồn nitơ ưa thích cho sự phát triển của *R. raciborskii* dựa trên cả tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ hấp thụ (Burford và cs., 2016, 2018). Tương tự, nồng độ N-NH₄ cao (lên đến 700 mg/L) là yếu tố chính thúc đẩy sự nở hoa của *R. raciborskii* trong hai hồ chứa ở Brazil (Gemelgo và cs., 2008). Mối

tương quan nghịch giữa thể tích sinh học của *R. raciborskii* với nồng độ N-NO₃ (R = -0,41, p <0,05) trong hồ Buôn Phong cho thấy loài này vẫn có thể sinh trưởng tốt trong môi trường N-NO₃ giới hạn. Kết quả tương tự cũng được báo cáo trong các nghiên cứu ở thành phố Đông Tuyền, Ai Cập và phía tây Ba Lan, nơi mà sự phát triển mạnh mẽ của *R. raciborskii* vẫn có thể được phát hiện trong các hồ chứa có nồng độ N-NO₃ thấp (Lei và cs., 2014). Một số nghiên cứu ghi nhận rằng, *R. raciborskii* vẫn có thể chiếm ưu thế ngay cả trong điều kiện nitơ và phốt pho thấp (Burford và cs., 2017; Recknagel và cs., 2019; Xiao và cs., 2020, Werner và cs., 2020, Li và cs., 2020). Lý do của sự mâu thuẫn về nhu cầu dinh dưỡng trên cùng một loài có thể là do sự khác biệt giữa các chủng trong quần thể.

Thật vậy, sự biến đổi đặc hiệu xảy ra giữa các chủng *R. raciborskii* trong cùng một quần thể hoặc giữa các quần thể trong các khu vực địa lý khác nhau dẫn đến sự khác nhau về khả năng hấp thụ, lưu trữ N, P và khả năng sử dụng phốt pho hữu cơ hòa tan (DOP), nito hữu cơ hòa tan (DON) đã được quan sát trong các nghiên cứu gần đây (Willis và cs., 2017; Burford và cs., 2020). Những nghiên cứu về các chủng *R. raciborskii* được phân lập từ Úc cho thấy chúng có tỷ lệ hấp thụ P cao hơn so với các chủng từ các lục địa khác (Willis và cs., 2017). Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng, các chủng *R. raciborskii* được phân lập trong cùng một hồ có thể thay đổi đáng kể các đặc tính hình thái, sinh lý và di truyền, nhằm tăng cường tiềm năng của quần thể để thích nghi nhanh chóng với các điều kiện môi trường thay đổi (Burford và cs., 2017a, 2020). *R. raciborskii* có thể sinh trưởng tốt hơn các loài thực vật phù du khác trong phạm vi nồng độ dinh dưỡng rộng do đặc tính sinh lý linh hoạt của chúng như: ái lực hấp thu phốt pho, amoni cao và khả năng lưu trữ phốt pho cao (Willis và cs., 2017).

Trong nghiên cứu này, phân tích tương quan Pearson trong hai hồ đều cho thấy thể tích sinh học của *R. raciborskii* có tương quan thuận với nồng độ CYN và nồng độ độc tố tăng khi thể tích sinh học *R. raciborskii* tăng. Sự xuất hiện quanh năm kèm theo hiện tượng nở hoa vào thời điểm giao mùa và mùa khô của *R. raciborskii* trong nước hồ cho thấy nguy cơ ô nhiễm tiềm ẩn của nguồn nước nơi đây. Suy giảm chất

lượng nước đã làm tăng sự xuất hiện của VKL độc và độc tố của chúng trong các hồ chứa được sử dụng để cung cấp nước uống, nước cho sinh hoạt, cho các hoạt động giải trí và nuôi trồng thủy sản. Vì vậy, cần phải hiểu rõ hơn về động thái quần thể của nhóm loài VKL độc. Một số yếu tố môi trường như sự sẵn có của chất dinh dưỡng (nitơ và phốt pho), lượng mưa và nhiệt độ nước kiểm soát cấu trúc quần thể VKL cũng như sự hiện diện của các chủng độc và sự sản sinh độc tố của chúng (Moraes và cs., 2021). Trong nghiên cứu này, ở cả hai hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong cho thấy loài *R. raciborskii* sinh trưởng mạnh trong điều kiện nhiệt độ và hàm lượng dinh dưỡng cao. Có thể nhiệt độ nước và yếu tố dinh dưỡng sẵn có (nitơ và phốt pho) trong cả hai hồ là nhân tố môi trường chủ đạo ảnh hưởng đến sự nở hoa của loài VKL này.

Ở Việt Nam, sự biến động của *R. raciborskii* cũng cho thấy bị ảnh hưởng chính bởi nhiệt độ và dinh dưỡng trong các thủy vực ở Huế (Nguyen và cs., 2017). Trường hợp này cũng được quan sát thấy trong một số thủy vực ở vùng nhiệt đới trên thế giới (Kokocinski và cs., 2012; Burford và cs., 2016, 2018; Werner và cs., 2020). Tuy nhiên, *R. raciborskii* vẫn có thể sinh trưởng tốt, thậm chí nở hoa trong điều kiện nhiệt độ thấp (Werner và cs., 2020; Jia và cs., 2021) và nguồn dinh dưỡng (nitơ và phốt pho) bị giới hạn (Burford và cs., 2018; Recknagel và cs., 2019; Xiao và cs., 2020; Werner và cs., 2020; Li và cs., 2020). Chúng tôi nghĩ rằng, không có khả năng tổng quát hóa các điều kiện môi trường mà trong đó một loài hay một chủng có thể chiếm ưu thế, bởi vì sự khác biệt sinh học giữa các chủng VKL đã làm ảnh hưởng đáng kể đến phản ứng tăng trưởng của loài đối với những điều kiện môi trường xung quanh.

Bên cạnh những yếu tố môi trường, yếu tố sinh học (ĐVPD, cá) cũng được xem là một trong những nhân tố ảnh hưởng đến cấu trúc và quá trình hình thành nở hoa VKL nói chung và *R. raciborskii* nói riêng. Với đặc điểm hình thái dạng sợi, kích thước lớn và khả năng tạo độc tố CYN như chất ức chế cảm nhiễm, có thể đã góp phần làm giảm áp lực ăn thịt của các loài ĐVPD đối với *R. raciborskii*, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển bùng phát của loài này trong hai hồ nghiên cứu. Thật vậy, nhiều nghiên cứu cho thấy VKL là nguồn thức ăn không thích hợp, không thể duy trì sự phát triển và sinh sản cho một số loài động vật phù du vì chúng có kích thước cơ thể lớn, tạo ra các hợp chất chuyển hóa thứ cấp độc hại (độc tố VKL) và có giá trị dinh dưỡng thấp (thiếu các hợp chất dinh dưỡng cần thiết cho động vật phù du như sterol và axit béo đa không bão hòa), khiến chúng trở thành nguồn thực phẩm kém chất lượng cho ĐVPD (Soares và cs., 2010; Bednarska và cs., 2014).

Như vậy, phân tích PCA và tương quan Pearson cho thấy mối tương quan đáng kể giữa các loài có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng CYN trong nước hồ Ea Nhái và nước hồ Buôn Phong. Đồng thời cũng cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa các yếu tố nhiệt đô, N-NH4, P-PO4, TN, TP với thể tích sinh học của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ. Qua những kết quả đạt được trong nghiên cứu, chúng tôi nhân thấy rằng R. raciborskii là loài gây ra hiện tương nở hoa sinh độc tố CYN chính trong cả hai hồ và chúng sinh trưởng mạnh trong điều kiện nhiệt độ và hàm lương dinh dưỡng cao. Chúng tôi nghĩ rằng, có thể nhiệt đô nước và yếu tố dinh dưỡng sẵn có (nitơ và phốt pho) là nhân tố môi trường chủ đạo ảnh hưởng đến sự nở hoa của loài VKL độc này trong cả hai hồ. Việc thiếu đi những dấu hiệu trực quan trong quá trình nở hoa của Raphidiopsis raciborskii như: Hiếm khi hình thành những vệt trên bề mặt nước, ít làm thay đổi màu nước cùng với sự ổn định hóa học, khả năng tích lũy sinh học kết hợp với sự phân hủy châm của độc tố CYN do chúng sản sinh ra, đã đựa ra những thách thức lớn đối với các nhà máy xử lý nước uống, các cơ quan quản lý, giám sát chất lương nước công đồng trong việc dư báo sớm hiện tượng nở hoa và đảm bảo an ninh nguồn nước trong khu vực nghiên cứu.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

1. Trong hai hồ nghiên cứu đã ghi nhận được 34 loài VKL thuộc 14 chi, 6 họ và 3 bộ (Chroococcales, Oscillatoriales và Noctoscales). Hồ Buôn Phong có 26 loài phân bố trong 3 bộ, 5 họ và 10 chi với 2 loài có khả năng sinh độc tố CYN: *Raphidiopsis raciborskii* và *Chrysosporum ovalisporum*. Chroococcales là bộ chiếm số lượng nhiều nhất cho cả họ, chi và loài trong hồ Buôn Phong. Trong hồ Ea Nhái, ghi nhận được 19 loài phân bố trong 3 bộ, 6 họ và 9 chi. Trong đó, có 3 loài có khả năng sinh độc tố CYN: *R. raciborskii; R. curvata và R. mediterranea*. Oscillatoriales là bộ có số lượng họ, chi, loài cao nhất hồ Ea Nhái. Không có sự khác biệt đáng kể trong phân bố theo không gian của các loài VKL trong cả hai hồ nghiên cứu. Xét về mặt thời gian, cho thấy sự biến động thành phần loài VKL theo mùa rõ rệt trong cả hai hồ, số loài thấp vào những tháng mùa mưa và cao hơn nhiều vào những tháng mùa khô.

2. Thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN (*R. raciborskii, R. curvata, R. mediterranea* và *Anabaena* sp.2) và hàm lượng độc tố CYN đều cho thấy sự biến động theo mùa rõ rệt, thấp vào mùa mưa và cao hơn vào mùa khô trong cả hai hồ nghiên cứu. Đồng thời thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN đều có mối tương quan thuận với hàm lượng CYN trong nước hai hồ. Hàm lượng CYN trong nước hồ Ea Nhái dao động từ 1,01 - 1,34 µg/L và hàm lượng CYN trong nước hồ Buôn Phong nằm trong khoảng 0,04 - 0,72 µg/L.

3. Xác định được 4 loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN: *R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea* và *Anabaena* sp.2 trong hai hồ nghiên cứu. Hồ Ea Nhái có 3 loài (*R. raciborskii*, *R. curvata* và *R. mediterranea*) và hồ Buôn Phong có 2 loài (*R. raciborskii* và *Anabaena* sp.2).

4. Trong cả hai hồ nghiên cứu, nhiệt độ và dinh dưỡng (N-NH4, P-PO4, TN, TP) là những nhân tố môi trường chủ đạo ảnh hưởng đến sự biến động quần thể của bốn loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN. Trong hồ Ea Nhái, thể tích sinh học của *R*. *raciborskii, R. curvata* và *R. mediterranea* tương quan thuận với nhiệt độ, N-NH4, P-PO4, TN, TP. Ở hồ Buôn Phong, thể tích sinh học *R. raciborskii* cho thấy mối tương quan thuận với nhiệt độ, N-NH4, P-PO4. Trong khi đó, loài *Anabaena* sp.2 chỉ cho thấy mối tương quan với nhiệt độ. Trong cả hai hồ, loài *R. raciborskii* sinh trưởng mạnh trong điều kiện nhiệt độ và hàm lượng dinh dưỡng cao. Vì vậy, có thể nhiệt độ nước và yếu tố dinh dưỡng sẵn có (nitơ và phốt pho) là nhân tố môi trường chủ đạo ảnh hưởng đến sự nở hoa của loài VKL độc này trong cả hai hồ nghiên cứu.

Kiến nghị

1. Cần mở rộng phạm vi nghiên cứu để có thể nhận định chính xác về sự hiện diện của những loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN cũng như những nhân tố môi trường chủ đạo quyết định đến sự phát triển của nhóm loài này trong các thủy vực nước ngọt ở Đắk Lắk nói chung và Việt Nam nói riêng, nhằm dự báo chính xác nguy cơ ô nhiễm độc tố, kiềm chế sự phát triển bùng lên của nhóm loài VKL sinh độc tố CYN.

2. Với rủi ro tiềm ẩn của CYN trong các thủy vực dạng hồ, đòi hỏi phải đưa ra những chương trình giám sát sinh học hiệu quả kết hợp với việc quản lý nguồn nước dựa vào cộng đồng nhằm đảm bảo sức khỏe cộng đồng, bảo vệ nguồn tài nguyên nước và nguồn lợi thủy sản ở khu vực nghiên cứu nói riêng và các thủy vực nước ngọt Việt Nam nói chung.

3. Bên cạnh các yếu phi sinh học, cần mở rộng nghiên cứu ảnh hưởng của nhân tố sinh học lên sự biến động thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN để có cái nhìn đầy đủ hơn cho hệ sinh thái thủy vực.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

- My Thi Diem Ngo, Dung Manh Doan, Phap That Ton, Thuy Thi Duong, Ha Manh Bui, Lien Thi Thu Nguyen (2022). Population dynamics of *Raphidiopsis raciborskii* and cylindrospermopsin concentration in Ea Nhai reservoir in Dak Lak province, Vietnam. *Pol. J. Environ. Study* 31(4) 1-12. DOI: 10.15244/ pjoes/ 146704.
- Thi Diem My Ngo, That Phap Ton, Thi Thuy Duong, Thi Phuong Quynh Le, Thi Thu Lien Nguyen (2022). Cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii* and its toxin in Buon Phong reservoir, Dak Lak province, Vietnam. *Vietnam Journal of Earth Sciences* 1-16. DOI: 10.15625/2615-9783/16997.
- 3. Ngô Thị Diễm My, Tôn Thất Pháp, Nguyễn Thị Thu Liên (2022). Nở hoa của loài vi khuẩn lam độc *Raphidiopsis raciborskii* tại hồ Buôn Phong, tỉnh Đắk Lắk. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên* 131(1A) 43-49. DOI: 10.26459/- hueunijns.v131i1A.6341
- 4. Ngô Thị Diễm My, Tôn Thất Pháp, Nguyễn Thị Thu Liên (2020). Thành phần loài vi khuẩn lam ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong tỉnh Đắk Lắk. Báo cáo khoa học hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2020, NXB Đại học Huế, 983-989.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

- Nguyễn Thị Ben (2011). Nghiên cứu sự phân bố của các loài vi khuẩn lam và sự tương quan với các yếu tố môi trường tại hồ công viên 29/3, thành phố Đà Nẵng. Luận văn thạc sĩ khoa học. Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.
- Nguyễn Thu Hồng, Đào Thanh Sơn, Võ Thị Mỹ Chi, Đặng Quốc Minh, Lê Hồ Khánh Hỷ, Phan Bảo Vy, Đoàn Thị Thiết, Phạm Xuân Kỳ, Đào Việt Hà (2015). Độc tố saxitoxin ở một số chủng vi khuẩn lam cylindrospermopsis raciborskii phân lập từ hồ Dầu Tiếng. Tuyển Tập Nghiên Cứu Biển 1: 41-49.
- Đặng Đình Kim, Dương Thị Thủy, Nguyễn Thị Thu Liên, Đào Thanh Sơn, Lê Thị Phương Quỳnh Và Đỗ Hồng Lan Chi (2014). Vi khuẩn lam độc nước ngọt. NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
- 4. Nguyễn Thi Thu Liên, Nguyễn Thị Cảnh, Lê Thị Trân Nhi (2010). Hình thái và khả năng sinh độc tố cylindrospermopsin của các chủng tảo lam từ một số ao hồ Việt Nam, *Tạp chí công nghệ sinh học* 8(1): 103-108.
- 5. Lưu Thị Thanh Nhàn (2010). Vi khuẩn lam ở lưu vực sông La Ngà. Luận án tiến sĩ sinh học. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
- 6. Sở NN&PTNN Đắk Lắk (2018). Dự án: Rà soát, điều chỉnh, bổ sung quy hoạch phát triển thủy lợi tỉnh Đắk Lắk đến năm 2020, tầm nhìn 2030, báo cáo quy hoạch tiêu úng, phòng chống lũ, Đắk Lắk.
- Sở Tài nguyên và Môi trường Đắk Lắk (2016). Báo cáo hiện trạng môi trường tỉnh Đắk Lắk giai đoạn 2016 – 2020.
- 8. Đào Thanh Sơn, Bùi Bá Trung, Võ Thị Mỹ Chi, Bùi Thị Như Phượng, Đỗ Hồng Lan Chi, Nguyễn Thanh Sơn, Bùi Lê Thanh Khiết (2014c). Suy giảm chất lượng nước và độc tính sinh thái vi khuẩn lam từ hồ xuân hương, Đà Lạt. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ 52*(1) 91-99.
- 9. Đào Thanh Sơn, Trần Phước Thảo, Nguyễn Thị Thu Liên, Nguyễn Thanh Sơn, Bùi Bá Trung (2016). Ghi nhận đầu tiên về độc tính của loài vi khuẩn lam planktohrix rubescens phân lập từ ao nuôi cá tỉnh Sóc Trăng. Tạp chí sinh học 38(1) 115-123.

- Hoàng Thị Thanh (2010). Phát hiện gen sinh độc tố cylindrospermopsin trong vi khuẩn lam bằng PCR. Luận văn thạc sĩ sinh học. Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.
- 11. Lê Thương (2010). Sự biến động về thành phần loài và số lượng thực vật nổi ở hồ EaNhái và hồ EaSup tỉnh DakLak. Luận án tiến sĩ sinh học. Viện Hải dương học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
- Dương Đức Tiến (1996). Phân loại vi khuẩn lam ở Việt Nam, NXB Nông nghiệp Hà Nội.
- 13. Trần Thị Tình (2017). Cấu trúc quần xã thực vật phù du trong các hồ chứa ở Cao nguyên Lâm Viên tỉnh Lâm Đồng. Luận án tiến sĩ sinh học. Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Tài liệu tiếng Anh

- Abreu, V. A., Popin, R. V., Alvarenga, D. O., Schaker, P. D., Hoff-Risseti, C., Varani, A. M., & Fiore, M. F. (2018). Genomic and genotypic characterization of *Cylindrospermopsis raciborskii*: toward an intraspecific phylogenetic evaluation by comparative genomics. *Frontiers in microbiology*, *9*, 306.
- Adamski, M., Konrad, W., Ariel, K., & Alica, H. (2020). Cyanotoxin cylindrospermopsin producers and the catalytic decomposition process: A review. *Harmful Algae*, 98, 101894.
- Aguilera, A., Aubriot, L., Echenique, R. O., Salerno, G. L., Brena, B. M., Pírez, M., & Bonilla, S. (2017). Synergistic effects of nutrients and light favor Nostocales over non-heterocystous cyanobacteria. *Hydrobiologia*, 794(1), 241-255.
- Aguilera, A., Gómez, E. B., Kaštovský, J., Echenique, R. O., & Salerno, G. L. (2018). The polyphasic analysis of two native Raphidiopsis isolates supports the unification of the genera *Raphidiopsis* and *Cylindrospermopsis* (Nostocales, Cyanobacteria). *Phycologia*, 57(2), 130-146.
- Antosiak, A., Nada, T., Robert, M., Mikołaj, K., Agnieszka, B., Wojciech, S., Agnieszka, K. B., Anusuya, W., & Dariusz, D. (2020). Different Gene Expression Response of Polish and Australian *Raphidiopsis raciborskii* Strains to the Chill/Light Stress. *Applied Sciences*, 10(16), 5437.

- Aragão, N. K. C. V., Moura, A.N., & Bittencourt, M.C. (2013). Planktonic Cyanobacteria forming blooms in reservoirs of northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 8(4): 662-668.
- Barros, M.U., Wilson, A.E., Leitão, J.I., Pereira, S.P., Buley, R.P., Fernandez-Figueroa, E.G., Capelo-Neto, J. (2019). Environmental factors associated with toxic cyanobacterial blooms across 20 drinking water reservoirs in a semi-arid region of Brazil. *Harmful Algae*, 86, 128-137.
- 21. Baxter, K., Jameson, I. D., & Willis, A. (2020). Towards defining global ecoty-pes of the toxic cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii*. *Applied Phycology*, 1-10.
- Bittencourt-Oliveira, M. A. R. I. A., Carmo, D., Piccin-Santos, V. I. V. I. A. N. E., Moura, A. N., Aragão-Tavares, N. K., & Cordeiro-Araújo, M. K. (2014). Cyanobacteria, microcystins and cylindrospermopsin in public drinking supply reservoirs of Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86, 297-310.
- 23. Bednarska, A., & Slusarczyk, M. (2013). Effect of non-toxic, filamentous cyanobacteria on egg abortion in *Daphnia* under various thermal conditions. *Hydrobiologia*, 715(1), 151-157.
- Bednarska, A., Pietrzak, B., & Pijanowska, J. (2014). Effect of poor manageability and low nutritional value of cyanobacteria on Daphnia magna life history performance. *Journal of Plankton Research*, 36(3), 838-847.
- 25. Bonilla, S., González-Piana, M., Soares, M. C., Huszar, V. L., Becker, V., Somma, A., & Aubriot, L. (2016). The success of the cyanobacterium *Cylindro-spermopsis raciborskii* in freshwaters is enhanced by the combined effects of light intensity and temperature. *Journal of Limnology*, 75(3).
- Bowling, L., Baldwin, D., Merrick, C., Brayan, J., & Panther, J. (2018). Possible drivers of a *Chrysosporum ovalisporum* bloom in the Murray River, Australia, in 2016. *Marine and Freshwater Research*, 69(11), 1649-1662.
- Briand, J. F., Leboulanger, C., Humbert, J. F., Bernard, C., & Dufour, P. (2004). *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming. *Journal of Phycology*, 40, 231–238.

- Burford, M. A., Beardall, J., Willis, A., Orr, P. T., Magalhaes, V. F., Rangel, L. M., & Neilan, B. (2016). Understanding the winning strategies used by the bloomforming cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Harmful Algae*, 54, 44–53.
- Burford, M. A., Davis, T. W., Orr, P. T., Sinha, R., Willis, A., & Neilan, B. A. (2014). Nutrient-related changes in the toxicity of field blooms of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*. *FEMS Microbiology Ecology*, 89(1), 135-148.
- Burford, M. A., Willis, A., Chuang, A., Man, X., & Orr, P. (2018). Recent insights into physiolo-gical responses to nutrients by the cylindrospermopsin producing cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, *36*, 1032–1039.
- Burford, M. A., Carey, C. C., Hamilton, D. P., Huisman, J., Paerl, H. W., Wood, S. A., & Wulff, A. (2020). Perspective: Advancing the research agenda for improving understanding of cyanobacteria in a future of global change. *Harmful Algae*, *91*, 101601.
- Carmichael, W. W., He, J. W., Eschedor, J., He, Z. R., & Juan, Y. M. (1988). Partial structural determination of hepatotoxic peptides from *Microcystis aeruginosa* (cyanobacterium) collected in ponds of central China. *Toxicon*, -26(12), 1213-1217.
- 33. Casero, M. C., Velázquez, D., Medina-Cobo, M., Quesada, A., & Cirés, S. (2019). Unmasking the identity of toxigenic cyanobacteria driving a multi-toxin bloom by high-throughput sequencing of cyanotoxins genes and 16S rRNA metabarcoding. *Science of the Total Environment*, 665, 367-378.
- Chernoff, N., Hill, D. J., Chorus, I., Diggs, D. L., Huang, H., King, D., ... & Wood, C. R. (2018). Cylindrospermopsin toxicity in mice following a 90-d oral exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part* A, 81(13), 549-566.
- 35. Christensen, S. (2006): Potential toxic cyanobacteria (blue-green algae) in drinking water reservoirs of Ho Chi Minh City, Vietnam. Master Thesis, Copenhagen.
- Cirés, S., & Ballot, A. (2016). A review of the phylogeny, ecology and toxin production of bloom-forming *Aphanizomenon* spp. and related species within the Nostocales (cyanobacteria). *Harmful Algae*, 54, 21-43.

- Cordeiro, R., Azevedo, J., Luz, R., Vasconcelos, V., Gonçalves, V. and Amélia F. (2021). Cyanotoxin Screening in BACA Culture Collection: Identification of New Cylindrospermopsin Producing Cyanobacteria. *Toxins.* 13, 258.
- 38. Chorus, I., & Welker, M. (2021). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management* (p. 858). Taylor & Francis.
- Christophoridis, C., Zervou, S. K., Manolidi, K., Katsiapi, M., Moustaka-Gouni, M., Kaloudis, T., ... & Hiskia, A. (2018). Occurrence and diversity of cyanotoxins in Greek lakes. *Scientific reports*, 8(1), 1-22.
- 40. Dao, T. S., Do-Hong, L. C., & Wiegand, C. (2010a). Chronic effects of cyanobacterial toxins on Daphnia magna and their offspring. *Toxicon*, *55*(7), 1244-1254.
- Dao, T.S., Cronberg, G., Nimptsch J., Do-Hong, L. C., & Wiegand C. (2010b). Toxic cyanobacteria from Tri An Reservoir, Vietnam. *Nova Hedwigia*, 90, 433–448.
- 42. Dao T.S., Tran T.L., Pham, T.L., Do-Hong L.C. & Nguyen P.D., (2013) Impacts of cyano-bacterial toxins from Dau Tieng Reservoir, Vietnam, on the early life stage of zebrafish. *International Proceeding of Chemical, Biological and Environmental Engineering*, 58, 41–46.
- 43. Dao, T.S. (2016). Relationship between Phytoplankton and Environmental Variables from Bien Ho and Lak Lakes in Central Highland of Vietnam. *Journal of Environment and Ecology*, 7(2).
- 44. Dao, T. S., Nguyen, T. P. L., & Vo, T. K. T. (2016). Toxicity of cyanobacterial extract from *Cylindrospermopsis raciborskii* and potential solutions for mitigation the cyanobacterial mass development in Xuan Huong Lake, Da Lat City, Vietnam. In *Environmental Technology and Innovations: Proceedings of the 1st International Conference on Environmental Technology and Innovations* (Ho Chi Minh City, Vietnam, 23-25 November 2016) (p. 213). CRC Press.
- 45. Doyle, J.J, & Doyle, J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19,11-15.
- Duong, T. T., Le, T. P., Dao, T. S., Pflugmacher, S., Rochelle-Newall, E., Hoang, T. K., Vu, T. N., Ho, C. T., & Dang, D. K. (2013). Seasonal variation of cyanobacteria and microcystins in the Nui Coc Reservoir, Northern Vietnam. *Journal of applied phycology*, 25, 1065–1075.

- Falconer, I. R., & Humpage, A. R. (2006). Cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water supplies: Cylindrospermopsins. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 21(4), 299-304.
- 48. Falfushynska H., Horyn O., Brygider A., Fedoruk O., Buyak B., Poznansky D., Poniedziałek B., Kokociński M., & Rzymski P. (2018). Is the presence of Central European strains of *Raphidiopsis (Cylindrospermopsis) raciborskii* a threat to a freshwater fish? An in vitro toxicological study in common carp cells. *Aquatic Toxicology*, 30901-9.
- Ferrão-Filho, A. S., Cunha, R., Magalhães, V. F., Soares, M. C. S., & Baptista, D. F. (2007). Evaluation of sub-lethal toxicity of cyanobacteria on the swimming activity of aquatic organisms by image analysis. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2(2), 1-8.
- 50. Findlay, D. L., & Kling, H. J. (2001). Protocols for measuring biodiversity: phytoplankton in freshwater. *Winnipeg: Department of Fisheries and Oceans*.
- Flores-Rojas, N. C., & Esterhuizen, M. (2020). Uptake and effects of cylindrosper-mopsin: Biochemical, physiological and biometric responses in the submerged macrophyte Egeria densa Planch. *Water*, 12(11), 2997.
- Gaget, V., Humpage, A. R., Huang, Q., Monis, P., & Brookes, J. D. (2017). Benthic cyanobacteria: A source of cylindrospermopsin and microcystin in Australian drinking water reservoirs. *Water research*, *124*, 454-464.
- Gin, K.I., Zhi Yang Sim Z.Y., Goh, K.C., Kok J.W., Te, S.T., Tran N.H., Li W., He Y. (2021). Novel cyanotoxin-producing *Synechococcus* in tropical lakes. *Water Research*, 192, 116828.
- González-Pleiter, M., Cirés, S., Wörmer, L., Agha, R., Pulido-Reyes, G., Martín Betancor, K., Rico, A., Leganés, F., Quesada, A., & Fernández-Piñas, F. (2020). Ecotoxicity assessment of microcystins from freshwater samples using a bioluminescent cyanobacterial bioassay. *Chemosphere*, 240, 124966.
- 55. Hindák, F., & Moustaka, M. T. (1988). Planktic cyanophytes of lake Volvi, Greece. Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes, 497-528.

- Hinojosa, M. G., Gutiérrez-Praena, D., Prieto, A. I., Guzmán-Guillén, R., Jos, A., & Cameán, A. M. (2019). Neurotoxicity induced by microcystins and cylindrospermopsin: A review. *Science of the total environment*, 668, 547-565.
- Hipsher, C., Barker, J., & MacKay, A. (2020). Impact of bloom events on dissolved organic matter fluorophore signatures in Ohio waters. *Science of the Total Environment*, 699, 134003.
- Hoek, C., Mann, D., Jahns, H. M., & Jahns, M. (1995). *Algae: an introduction to phycology*. Cambridge university press.
- 59. Hoffmann, L. (2005). Nomenclature of Cyanophyta/Cyanobacteria: roundtable on the unification of the nomenclature under the Botanical and Bacteriological Codes. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 13-29.
- Hoff-Risseti, C., Dörr, F.A., Schaker, P.D., Pinto, E., Werner, V.R., & Fiore, M.F. (2013). Cylindrospermopsin and saxitoxin synthetase genes in *Cylindrospermopsis* raciborskii strains from Brazilian freshwater. *PLoS One*, 8(8), e74238.
- Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M., & Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471-483.
- Jia, N., Wang, Y., Guan, Y., Chen Y., Li, R., & Yu, G. (2021). Occurrence of *Raphidiopsis raciborskii* blooms in cool waters: Synergistic effects of nitrogen availability and ecotypes with adaptation to low temperature. *Environmental Pollution, 270,* 116070.
- Karlson, B., Cusack C., & Bresnan E. (2010). Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis (IOC Manuals and Guides, no. 55) (IOC/2010/MG/55). UNESCO, Paris.
- Kokocinski, M., Jasser, I., Karosiene, J., Kasperoviciene, J., Kobos, J., Koreiviene, J., Soininen, J., Szczurowska, A., & Woszczyk, M. (2017). Distribution of invasive *Cylindrospermopsis raciborskii* in the East-Central Europe is driven by climatic and local environmental variables. *FEMS microbiology ecology*, 93(4), fix035.
- 65. Komárek, J., & Anagnostidis, K. (1989). Modern approach to the classification system of cyanophytes 4 Nostocales. *Archiv für Hydrobiologie/Supplements, 56,* 247-345.

- Komárek J, Anagnostidis K (1999). Cyanoprokaryota 1. Chroococcales. In: Ettl H, Gerloff I, Heynig H et al., editors: Süßwasserflora von Mitteleuropa. Jena: Gustav Fischer.
- Komárek, J., & Anagnostidis, K. (2005). Band 19/2. Cyanoprocaryota, 2. Teil: Oscillatoriales. Süβwasserflora von Mitteleuropa, Elsevier, Italy, 759, 38274-09195.
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J. & Johansen, J.R. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, 86:, 295–335.
- Komárek, J., & Johansen, J. R. (2015). Filamentous cyanobacteria. In *Freshwater Algae of North America* (pp. 135-235). Academic Press.
- Kotai, J. (1972). Instructions for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae Publication B-11/69. Norwegian Institute for Water Research, Blindern. Oslo 3 Norway.
- Kouassi, B.A.T., Adon, M.P., Komoé, K., & Ouattara, A. (2015). Cyanobacteria from a shallow Reservoir in Côte d'Ivoire. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 7(5): 136-149.
- Kurmayer, R., Sivonen, K., Wilmotte, A., & Salmaso, N. (Eds.). (2017). *Molecular tools for the detection and quantification of toxigenic cyanobacteria*. John Wiley & Sons.
- Lei, L., Peng, L., Huang, X., & Han, B. P. (2014). Occurrence and dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* and dissolved cylindrospermopsin in urban reservoirs used for drinking water supply, South China. *Environmental monitoring and assessment*, 186(5), 3079-3090.
- Lei, L., Dai, J., Lin, Q., & Peng, L. (2020). Competitive dominance of Microcystis aeruginosa against Raphidiopsis raciborskii is strain-and temperature-dependent. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*, (421), 36.
- 75. Lei, L., Huang, H., Peng, L., Yang, Y., Xiao, L., & Han, B. P. (2020). Lifehistory responses of *Daphnia sinensis* simultaneously exposed to *Microcystis aeruginosa* and *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Ecotoxicology*, 29(6), 771-779.

- Li, H., Shen, C. R., Huang, C. H., Sung, L. Y., Wu, M. Y., & Hu, Y. C. (2016). CRISPR-Cas9 for the genome engineering of cyanobacteria and succinate production. *Metabolic engineering*, *38*, 293-302.
- 77. Li, X., Shouliang, H., Jingtian, Z., Xiao Z., Beidou, X., & Renhui, L. (2020). Factors related to aggravated *Cylindrospermopsis* (cyanobacteria) bloom following sediment dredging in an eutrophic shallow lake. *Environmental Science and Ecotechnology*, 2, 100014.
- Lorenzi, A.C., Chia, M.A., & Piccin-Santos, V. (2015). Microcystins and cylindrospermopsins molecular markers for the detection of toxic cyanobacteria: a case study of northeastern Brazilian reservoirs. *Limnetica*, 34, 269-282.
- Magonono, M., Oberholster, P. J., Shonhai, A., Makumire, S., & Gumbo, J. R. (2018). The presence of toxic and non-toxic cyanobacteria in the sediments of the Limpopo River Basin: Implications for human health. *Toxins*, *10*(7), 269.
- Mc Gregor, G. B., Sendall, B. C., Hunt, L.T., & Eaglesham, G. K. (2011). Report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from *Raphidiopsis mediterranea* Skuja (Cyanobacteria/Nostocales). *Harmful Algae, 10*, 402–410.
- McGregor, G. B., & Sendall, B. C. (2015). Phylogeny and toxicology of *Lyngbya* wollei (Cyanobacteria, Oscillatoriales) from north-eastern Australia, with a description of Microseira gen. nov. *Journal of Phycology*, *51*(1), 109-119.
- Metcalf J.S & Codd G.A. (2014). Cyanobacterial toxins (cyanotoxins) in water. Foundation for Water Res Allen House, The Listons, Liston Road, Marlow, Bucks SL 7 1FD, UK.
- Mihali, T. K., Kellmann, R., Muenchhoff, J., Barrow, K. D., & Neilan, B. A. (2008). Characterization of the gene cluster responsible for cylindrospermopsin biosynthesis. *Applied and environmental microbiology*, 74(3), 716-722.
- Ministry of Science, Technology and Environment (MOSTE), (2001) The valuable biodiversity and environment wetlands in Vietnam (*in Vietnamese*), P. 100-101, 106-107.
- 85. Mohamed, Z. A. (2008). Toxic cyanobacteria and cyanotoxins in public hot springs in Saudi Arabia. *Toxicon*, *51*(1), 17-27.

- Mohamed Nor, N. H., Te, S. H., Mowe, M. A. D., & Gin, K. Y. H. (2019). Environmental factors influence cylindrospermopsin production of *Cylindro-spermopsis raciborskii* (CR12). *Journal of Plankton Research*, 41(2), 114-126.
- 87. Mohamed, Z. A., & Al Shehri, A. M. (2010). Microcystin production in epiphytic cyanobacteria on submerged macrophytes. *Toxicon*, *55*(7), 1346-1352.
- Mohamed, Z. A., & Bakr, A. (2018). Concentrations of cylindrospermopsin toxin in water and tilapia fish of tropical fishponds in Egypt, and assessing their potential risk to human health. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(36), 36287-36297.
- Moosova, Z., Pekarova, M., Sindlerova, L. S., Vasicek, O., Kubala, L., Blaha, L., & Adamovsky, O. (2019). Immunomodulatory effects of cyanobacterial toxin cylindrospermopsin on innate immune cells. *Chemosphere*, 226, 439-446.
- 90. Moraes, A. C. N., & Magalhães, V. F. (2018). Renal tubular damage caused by cylindrospermopsin (cyanotoxin) in mice. *Toxicology Letters*, 286, 89-95.
- Nguyen, T. T. L., Cronberg, G., Larsen, J., & Moestrup, Ø. (2007). Planktic cyanobacteria from freshwater localities in Thuathien-Hue province, Vietnam. I. Morphology and distribution. *Nova Hedwigia*, 85, 1-34.
- 92. Nguyen, T. T. L., Hoang, T. H., Nguyen, T. K., & Duong, T. T. (2017). The occurrence of toxic cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* and its toxin cylindrospermopsin in the Huong River, Thua Thien Hue province, Vietnam. *Environ Monit Assess, 189*, 490.
- 93. Nguyen T. D., Vu D.H., Nguyen T.L., Le T.H., & Pham T.D. (2016). The Composition of Algae, Cyanobacteria and the Application in Water Quality Assessment in Truc Bach Lake, Hanoi. *Natural Sciences and Technology*, 32(1S): 26-32.
- Nogueira, I. C., Saker, M. L., Pflugmacher, S., Wiegand, C., & Vasconcelos, V. M. (2004). Toxicity of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology: An International Journal*, -19(5), 453-459.
- OECD, (1982). Eutrophication of Waters monitoring, Assessment and Control. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris.
- Oudra, B., Loudiki, M., Vasconcelos, V., Sabour, B., Sbiyyaa, B., Oufdou, K., & Mezrioui, N. (2002). Detection and quantification of microcystins from cyanobacteria strains isolated from reservoirs and ponds in Morocco. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 17(1), 32-39.

- Pagni, R. L., Falco, P. B., André, C. A. S. (2020). Autecology of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 32.
- Papadimitriou, T., Katsiapi, M., Vlachopoulos, K., Christopoulos, A., Laspidou, C., Moustaka-Gouni, M., & Kormas, K. J. E. p. (2018). Cyanotoxins as the "common suspects" for the Dalmatian pelican (Pelecanus crispus) deaths in a Mediterranean reconstructed reservoir. *Environmental pollution*, 234, 779-787.
- Pham, T. L., Dao, T. S., Tran, N. D., Jorge, N., Claudia, W., & Utsumi, M. (2017). Influence of environmental factors on cyanobacterial biomass and microcystin concentration in the Dau Tieng reservoir, a tropical eutrophic water body in Vietnam. *International Journal of Limnology*, *53*, 89–100.
- 100. Pichardo, S., Came_A. M., & Jos A. (2017). In vitro toxicological assessment of cylindrospermopsin: a review. *Toxins*, *9*, 402e443.
- 101. Pomati, F., Kellmann, R., Cavalieri, R., Burns, B. P., & Neilan, B. A. (2006). Comparative gene expression of PSP-toxin producing and non-toxic *Anabaena circinalis* strains. *Environment international*, 32(6), 743-748.
- 102. Poniedziałek, B., Rzymsk, P., Karczewski, J. (2014b). Cylindrospermopsin decreases the oxidative burst capacity of human neutrophils. *Toxicon*, 87, 113e119.
- 103. Poniedziałek, B., Rzymski, P., & Wiktorowicz, K. (2014). Toxicity of cylindrospermopsin in human lymphocytes: Proliferation, viability and cell cycle studies. *Toxicology in vitro*, 28(5), 968-974.
- 104. Prentice, M. J., Hamilton, D. P., Willis, A., O'Brien, K. R., & Burford, M. A. (2019). Quantifying the role of organic phosphorus mineralisation on phyto-plankton communities in a warm-monomictic lake. *Inland Waters*, 9(1), 10-24.
- 105. Recknagel, F., Zohary, T., Rücker, J., Orr, P. T., Castelo, C., Nixdorf, B., & Max, M. M. (2019). Causal relationships of *Raphidiopsis* (formerly *Cylindrospermop-sis*) dynamics with water temperature and N:P-ratios: A meta-analysis across lakes with different climates based on inferential modelling. *Harmful Algae*, 84, 222–232.
- 106. Rzymski, P., Horyn, O., Budzyńska, A., Jurczak, T., Kokociński, M., Niedzielski, P., Klimaszyk, P., & Falfushynska, H. (2018). A report of *Cylindrospermopsis raciborskii* and other cyanobacteria in the water reservoirs of power plants in Ukraine. *Environmental Science and Pollution Research.*, 25, 15245-15252.

- 107. Schembri, M.A, Neilan, B.A, Saint, C.P. (2001). Identification of genes in toxin production in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environmental Toxicology*, 16(5), 413-421.
- 108. Scarlett, K. R., Kim, S., Lovin, L. M., Chatterjee, S., Scott, J. T., & Brooks, B. W. (2020). Global scanning of cylindrospermopsin: Critical review and analysis of aquatic occurrence, bioaccumulation, toxicity and health hazards. *Science of The Total Environment*, 738, 139807.
- 109. Senanayake, P.A.A.P.K., & Yatigammana, S.K. (2017). Quantitative observations of cyanobacteria and Dinoflagellata in reservoirs of Sri Lanka. *Ceylon Journal of Science*, 46(4), 55-68.
- 110. Soares, M. C. S., Rocha, M. I. D. A., Marinho, M. M., Azevedo, S. M., Branco, C. W., & Huszar, V. L. (2009). Changes in species composition during annual cyanobacterial dominance in a tropical reservoir: physical factors, nutrients and grazing effects. *Aquatic Microbial Ecology*, 57(2), 137-149.
- 111. Soares, M. C. S., Lürling, M., & Huszar, V. L. (2010). Responses of the rotifer Brachionus calyciflorus to two tropical toxic cyanobacteria (Cylindrospermopsis raciborskii and Microcystis aeruginosa) in pure and mixed diets with green algae. Journal of Plankton Research, 32(7), 999-1008.
- 112. Soares, M. C. S., Lürling, M., & Huszar, V. L. M. (2013). Growth and temperaturerelated phenotypic plasticity in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii. Phycological Research, 61*, 61-67.
- 113. Svirčev, Z., Lalić, D., Savić, G.B., Tokodi, N., Backović, D.D., Chen, L., Meriluoto, J., Codd, G.A. (2019). Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. *Archives of Toxicology*, 93, 2429–2481.
- 114. Stefanova, K., Radkova, M., Uzunov, B., Gärtner, G., & Stoyneva-Gärtner, M. (2020). Pilot search for cylindrospermopsin-producers in nine shallow Bulgarian waterbodies reveals nontoxic strains of *Raphidiopsis raciborskii*, *R. mediterranea* and *Chrysosporum bergii*. *Biotechnology & biotechnological equipment*, 34(1), 384-394.

- 115. Straser, A., Filipic, M., Gorenc, I., Zegura, B. (2013). The influence of cylindrospermopsin on oxidative DNA damage and apoptosis induction in HepG2 cells. *Chemosphere*, 92(1), 24–30.
- 116. Stüken, A., Campbell, R. J., Quesada, A., Sukenik, A., Dadheech, P. K., & Wiedner, C. (2009). Genetic and morphologic characterization of four putative cylindrospermopsin producing species of the cyanobacterial genera *Anabaena* and *Aphanizomenon. Journal of plankton research*, *31*(5), 465-480.
- 117. Takser, L., Benachour, N., Husk, B., Cabana, H., & Gris, D. (2016). Cyano-toxins at low doses induce apoptosis and inflammatory effects in murine brain cells: Potential implications for neurodegenerative diseases. *Toxicology reports*, *3*, 180-189.
- 118. Tawong, W., Pongcharoen, P., Nishimura, T., & Adachi, M. (2019). Molecular characterizations of Thai *Raphidiopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) based on 16S rDNA, *rbcLX*, and cylindrospermopsin synthetase genes. *Plankton Benthos Res*, 14, 211–223.
- 119. Walter, J. M., Lopes, F. A., Lopes-Ferreira, M., Vidal, L. M., Leomil, L., Melo, F., ... & Thompson, F. L. (2018). Occurrence of harmful cyanobacteria in drinking water from a severely drought-impacted semi-arid region. *Frontiers in Microbiology*, 176.
- 120. Wang, L., Chena, G., Xiao, G., Han, L., Wang, Q., & Hu, T. (2020). Cylindrospermopsin induces abnormal vascular development through impairing cytoskeleton and promoting vascular endothelial cell apoptosis by the Rho/ROCK signaling pathway. *Environmental Research*, 183, 109236.
- 121. Watanabe, M. F., Oishi, S., Harada, K. I., Matsuura, K., Kawai, H., & Suzuki, M. (1988). Toxins contained in *Microcystis* species of cyanobacteria (blue-green algae). *Toxicon*, 26(11), 1017-1025.
- 122. Weithoff, G., Taube, A., & Bolius, S. (2017). The invasion success of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in experimental mesocosms: genetic identity, grazing loss, competition and biotic resistance. *Aquatic invasions*, *12*(3).

- 123. Werner, V. R., Andréa, T., Lisangela, M. S., João, S. Y., Emanuel, B. N., David, E. B., & Dail H.L. (2020). Morphological, ecological and toxicological aspects of *Raphidiopsis raciborskii* (Cyanobacteria) in a eutrophic urban subtropical lake in southern Brazil. *Iheringia Serie Botanica*, 75, 2446-8231.
- 124. Willis, A., Chuang, A.W., Woodhouse, J.N., Neilan, B., Burford, M.A. (2016). Intraspecific variation in growth, morphology and toxin quotas for the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Toxicon*, *119*, 307–310.
- 125. Willis, A., Posselt, A. J., & Burford, M. A. (2017). Variations in carbon-tophosphorus ratios of two Australian strains of *Cylindrospermopsis raciborskii*. *European Journal of Phycology*, 52, 303- 310.
- 126. Willis, A., Woodhouse, J. N., Ongley, S. E., Jex, A. R., Burford, M. A., & Neilan,
 B. A. (2018). Genome variation in nine cooccurring toxic *Cylindrospermopsis raciborskii* strains. *Harmful Algae*, 73, 157–166.
- 127. Willis, A., Chuang, A. W., Dyhrman, S., & Burford, M. A. (2019). Differential expression of phosphorus acquisition genes in response to phosphorus stress in two *Raphidiopsis raciborskii* strains. *Harmful Algae*, 82, 19-25.
- 128. Wood, S. A., Pochon, X., Luttringer-Plu, Vant L., & Hamilton, D. P. (2014). Recent invader or indicator of environmental change? A phylogenetic and ecological study of *Cylindrospermopsis raciborskii* in New Zealand. *Harmful Algae, 39*, 64–74.
- 129. Via-Ordorika, L., Fastner, J., Kurmayer, R., Hisbergues, M., Dittmann, E., Komarek, J., ... & Chorus, I. (2004). Distribution of microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis* sp. in European freshwater bodies: detection of microcystins and microcystin genes in individual colonies. -*Systematic and Applied Microbiology*, 27(5), 592-602.
- Xiao, M., Willis, A., & Burford, M. A. (2017). Differences in cyanobacterial strain responses to light and temperature reflect species plasticity. *Harmful Algae*, 62, 84–93.
- 131. Xiao, M., Hamilton, D. P., Chuang, A., & Burford, M. A. (2020). Intrapopulation strain variation in phosphorus storage strategies of the freshwater cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii. FEMS Microbiolog Ecology*, 96(6), fiaa092.

- 132. Yamamoto, Y., Shiah, F. J., & Chieh Hsu, S. (2012). Seasonal variation in the net growth rate of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in a shallow artificial pond in northern Taiwan. *Plankton and Benthos Research*, *8*, 68–73.
- 133. Yamamoto, Y., & Shiah, F. K. (2016). Appearance of *Cylindrospermopsis* raciborskii in winter in an artificial pond in northern Taiwan. In Annales de Limnologie-International Journal of Limnology, 52, 335-341.
- 134. Yang, Y., Yu, G., Chen, Y., Jia, N., & Li, R. (2021). Four decades of progress in cylindrospermopsin research: The ins and outs of a potent cyanotoxin. *Journal of hazardous materials*, 406, 124653.
- 135. Yema, L., Litchman, E., & de Tezanos Pinto, P. (2016). The role of heterocytes in the physiology and ecology of bloom-forming harmful cyanobacteria. *Harmful Algae*, *60*, 131-138.
- 136. Yilmaz, M., & Phlips, E. J. (2011). Toxicity and genetic diversity of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Florida, USA. *Lake and Reservoir Management*, 27(3), 235-244.

DANH MỤC PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Hình ảnh hai hồ nghiên cứu và các mẫu nuôi cấy VKL trong phòng thí nghiệm.

Phụ lục 2: Kết quả phân tích độc tố CYN bằng ELISA và HPLC.

Phụ lục 3: Số liệu phân tích các yếu tố thủy lý, thủy hóa trong môi trường nước hồ Ea Nhái và nước hồ Buôn Phong.

Phụ lục 4: Thể tích sinh học VKL ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.

Phụ lục 1: Hình ảnh hai hồ nghiên cứu và các mẫu nuôi cấy VKL trong phòng thí nghiệm



Hồ Buôn Phong

Hồ Ea Nhái



Hình ảnh nuôi cấy các chủng VKL

Phụ lục 2: Kết quả phân tích độc tố CYN bằng ELISA và HPLC trong tự nhiên và trong các chủng nuôi cấy

Phụ lục 2.1. Kết quả phân tích độc tố CYN bằng ELISA trong mẫu nước hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong









Sắc kí đồ của chất chuẩn cylindrospermopsin



P5














Buôn Ma Thuột, ngày 21 tháng 05 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái
- 4. Số lượng mẫu: 03
- 5. Ngày gửi mẫu: 16/05/2019
- 6. Ngày trả kết quả: 21/05/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 1	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 2	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Ea Nhái 3	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
- Z	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

Kết quả nhận tích	Tên mẫu			
Ret qua phan tien	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	
$\mathrm{NH_4^+}(\mathrm{mg/l})$	0,16	0,15	0,14	
NO ₃ ⁻ (mg/l)	0,27	0,27	0,32	
Nitơ tổng số (mg/l)	1,87	1,86	1,85	
$PO_4^{3-}(mg/l)$	0,066	0,069	0,075	
Phospho tổng số(mg/l)	0,15	0,20	0,17	

Phòng Phân tích trung tâm

TS. Trần Minh Định

Viện CNSH và Môi Trường CÔNG NGHÊ SINH HOC MÔI TRƯỜ PGS. TS. Nguyễn Anh Dũng

- Kết quả có giá trị với mẫu gưi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kê từ ngày trả kết quả phân tích.





Buôn Ma Thuột, ngày 21 tháng 🕵 năm 20.4.3

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 03
- 5. Ngày gửi mẫu: 16./05./20.19
- 6. Ngày trả kết quả:21./05./20.19

Tên mẫu 🥎	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
5	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995
Buôn Phong 1	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996
Buôn Phong 2	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 3	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

	Tên mẫu				
Kêt quả phân tích	Buôn Phong 1	Buôn Phong 2	Buôn Phong 3		
$\mathrm{NH_4^+}(\mathrm{mg/l})$	0,182	0,189	0,193		
NO ₃ ⁻ (mg/l)	0,088	0,089	0,091		
Nitơ tổng số (mg/l)	1,980	2,000	2,030		
PO ₄ ³⁻ (mg/l)	0,065	0,064	0,068		
Phospho tổng số(mg/l)	0,174	0,185	0,189		

Phòng Phân tích trung tâm

Chs. Mayon Chi Huyon

Viện CNSH và Môi Trường SINH HO GS.TS. Nguyễn Anh Dũng

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.

Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.





Buôn Ma Thuột, ngày 21 tháng 06 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 15/06/2019
- 6. Ngày trả kết quả: 21/06/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996
Ea Nhâi 3 Buôn Phong 1 Buôn Phong 2 Buôn Phong 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
	Phosphat $(PO_4^{3-} tinh theo P)$	TCVN 6202 : 2008
	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

	Kết quả phân tích					
Tên mẫu	NH4 ⁺ . (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)	
Ea Nhái 1	0,11	0,20	1,85	0,063	0,176	
Ea Nhái 2	0,11	0,20	1,68	0,065	0,185	
Ea Nhái 3	0,11	0,21	1,74	0,065	0,186	
Buôn Phong 1	0,11	0,26	1,56	0,050	0,175	
Buôn Phong 2	0,11	0,22	1,40	0,045	0,163	
Buôn Phong 3.	0,12	0,25	1,46	HOC0,053	0,182	

Phòng Phân tích trung tâm

KTV. Đỗ Thị Tú Oanh

VIE SH và Môi Trường Gêncon PGS-TS. Nguyễn Quang Vinh

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kê từ ngày trả kết quả phân tích





Buôn Ma Thuột, ngày 22 tháng 07năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 15/07/2019
- 6. Ngày trả kết quả: 22/07/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích	
Ea Nhái 1	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995	
Ea Nhái 2 Ea Nhái 3	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996	
Buôn Phong 1	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000	
Buôn Phong 2	Phosphat $(PO_4^{3-} tinh theo P)$	TCVN 6202 : 2008	
Buôn Phong 3	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008	

_	Kết quả phân tích					
Tên mẫu	NH4 ⁺ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	$PO_4^{3-}(mg/l)$	Phospho tổng số (mg/l)	
Ea Nhái 1	0,140	0,196	1,28	0,059	0,154	
Ea Nhái 2	0,126	0,198	1,31	0,059	0,171	
Ea Nhái 3	0,182	0,252	1,54	0,064	0,161	
Buôn Phong 1	0,112	0,141	1,40	0,065	0,132	
Buôn Phong 2	0,084	0,145	1,52	0,056	0,124	
Buôn Phong 3	0,098	0,154	1,29	H0C0,064	0,137	

Phòng Phân tích trung tâm

KTV. Đố Thi Tú Danh

Viện GNSH và Môi Trường SINH HOC V MÔI TRƯ PGS. TS. Nguyễn Anh Dũng

Kết quả có giá trị với mẫn giri tại thời điềm phân tích do khách hàng cung cấp. Mẫu được lưu trữ 15 ngày kê từ ngày trả kết quả phân tích.





Buôn Ma Thuột, ngày 22 tháng 08 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 15/08/2019
- 6. Ngày trả kết quả: 22/08/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích		
Ea Nhái 1	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995		
Ea Nhái 2 Ea Nhái 3	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996		
Buôn Phong 1	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000		
Buôn Phong 2	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008		
Buôn Phong 3	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008		

	Kết quả phân tích				
Tên mẫu	NH4 ⁺ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	$PO_4^{3-}(mg/l)$	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,235	0,280	2,76	0,099	0,408
Ea Nhái 2	0,196	0,219	2,34	0,094	0,407
Ea Nhái 3	0,207	0,235	2,54	0,094	0.395
Buôn Phong 1	0,140	0,294	1,17	0,057	0.311
Buôn Phong 2	0,140	0,238	1,17	0,060	0.300
Buôn Phong 3	0,126	0,275	1,19	HOC 0,056	0.327

Phòng Phân tích trung tâm

This. Nguyễn Chị Huyên

Viện CNSH và Môi Trường SINH HOC V MÔI TRƯỜN PCS. TS. Nguyễn Anh Dũng

Kết quả có giá trị với mẫn gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.

Mâu được trư trữ 15 ngày kê từ ngày trả kết quả phân tích.



Buôn Ma Thuột, ngày 25 tháng 09 năm 2019.

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 18/09/2019
- 6. Ngày trả kết quả: 25/09/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích	
Ea Nhái 1	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995	
Ea Nhái 2 Ea Nhái 3	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996	
Buôn Phong 1	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000	
Buôn Phong 2	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008	
Buôn Phong 3	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008	

-	Kết quả phân tích					
Tên mẫu	NH4 ⁺ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	$PO_4^{3-}(mg/l)$	Phospho tổng số (mg/l)	
Ea Nhái 1	0,154	0,196	1,61	0,092	0,218	
Ea Nhái 2	0,160	0,198	1,65	0,097	0,222	
Ea Nhái 3	0,168	0,203	1,68	0,102	0,226	
Buôn Phong 1	0,140	0,210	1,33	0,079	0,131	
Buôn Phong 2	0,137	0,207	1,32	0,078	0,128	
Buôn Phong 3	0,146	0,216	1,33	0,079	0,132	

Phòng Phân tích trung tâm

Thuyen

ThS. Nguyên Thị + luyên

ien CNSH và Môi Trường CÔNG NGH**E** SINH HỌC VÀ MÔI TRƯƠNG/ Dung

Kết quả có giá trị với mẫu gữi tại thời điểm phân tích do khách hàng cùng cấp. Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trã kết quả phân tích.





PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 10/10/2019
- 6. Ngày trả kết quả: 17/10/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996
Buôn Phong 1	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 2	Phosphat (PO ₄ ³ tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

	Kết quả phân tích					
Tên mẫu	NH4 ⁺ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	$PO_4^{3-}(mg/l)$	Phospho tổng số (mg/l)	
Ea Nhái 1	0,184	0,359	1,96	0,104	0,206	
Ea Nhái 2	0,180	0,358	2,10	0,099	0,233	
Ea Nhái 3	0,180	0,355	2,24	0,102	0,224	
Buôn Phong 1	0,095	0,191	1,40	0,094	0,126	
Buôn Phong 2	0,100	0,187	1,26	0,090	0,127	
Buôn Phong 3	0,106	0,193	1,34	0,091	0,123	

Phòng Phân tích trung tâm

This. Nguyên Thị thuyên

Viện CNSH và Môi Trường Alle MÔI TRƯỜNG PCS. TS. Nguyễn Anh Dũng

Kết quả có giá trị với mẫn gửi tại thời điểm phân lịch do khách hàng cung cấp





Buôn Ma Thuột, ngày 19 tháng 11 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đãk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 16/11/2019
- 6. Ngày trả kết quả: 19/11/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1 Ea Nhái 2 Ea Nhái 3 Buôn Phong 1 Buôn Phong 2 Buôn Phong 3	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995
	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996
	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

	Kết quả phân tích					
Tên mẫu	NH4 ⁺ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	$PO_4^{3-}(mg/l)$	Phospho tổng số (mg/l)	
Ea Nhái 1	0,195	0,163	2,34	0,092	0,261	
Ea Nhái 2	0,198	0,163	2,04	0,097	0,233	
Ea Nhái 3	0,200	0,170	2,10	0,103	0,248	
Buôn Phong 1	0,135	0,117	1,18	0,086	0,098	
Buôn Phong 2	0,148	0,119	1,29	0,091	0,121	
Buôn Phong 3	0,137	0,120	1,21	0,093	0,138	

Phòng Phân tích trung tâm

ThS. Nguyên Thi Huyên

Viện CNSH và Môi Trường CÔNG NGHỆ SINH HOC VÀ MÔI TRƯỜNG PGS. TS. Nguyễn Anh Dũng

- Kết quả có giả trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cũng cấp
 - Mẫu được lưu trữ 15 ngày kế từ ngày trã kết quả phân tích.





Buôn Ma Thuột, ngày 28 tháng 12 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 23/12/2019
- 6. Ngày trả kết quả: 28/12/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích	
Ea Nhái 1	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995	
Ea Nhái 2 Ea Nhái 3	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996	
Buôn Phong 1	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000	
Buôn Phong 2	Phosphat $(PO_4^{3-}$ tinh theo P)	TCVN 6202 : 2008	
Buôn Phong 3	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008	

Tên mẫu	Kết quả phân tích					
	NH4 ⁺ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	$PO_4^{3-}(mg/l)$	Phospho tổng số (mg/l)	
Ea Nhái 1	0,148	0,210	2,98	0.097	0.255	
Ea Nhái 2	0,162	0,231	3,07	0.095	0.268	
Ea Nhái 3	0,151	0,224	2,82	0.089	0.261	
Buôn Phong 1	0,135	0,175	1,27	0.061	0.128	
Buôn Phong 2	0,127	0,168	1,38	0.073	0.134	
Buôn Phong 3	0,120	0,175	1,32	0,064	0.120	

Phòng Phân tích trung tâm

This. Nguyên Chi Huyên

Viện CNSH và Môi Trường Nguyễn Anh Dũng

Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cũng cấp.

Mẫu được lưu trữ 15 ngày kế từ ngày trả kết quả phân tích.





Buôn Ma Thuột, ngày 9 tháng 01 năm 2020

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 04/01/2020
- 6. Ngày trả kết quả: 9/01/2020

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2 Ea Nhái 3	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996
Ea Nhai 3 Buôn Phong 1	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 2	Phosphat $(PO_4^{3-} tinh theo P)$	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

Tên mẫu	Kết quả phân tích					
	NH4 ⁺ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	$PO_4^{3-}(mg/l)$	Phospho tổng số (mg/l)	
Ea Nhái 1	0,159	0,245	3,31	0,088	0,203	
Ea Nhái 2	0,174	0,275	3,53	0,092	0,221	
Ea Nhái 3	0,182	0,258	3,46	0,091	0,210	
Buôn Phong 1	0,141	0,177	1,23	0,046	0,087	
Buôn Phong 2	0,137	0,158	1,39	0,054	0,096	
Buôn Phong 3	0,139	0,163	1,42	0,052	0,092	

Phòng Phân tích trung tâm

The Nguyên Oh! Huyên

viên CNSH và Môi Trường VIÊN CÔNG NGHỆ SINH HỌT VÀ MÔI TRƯỜI Es. Ts. Nguyễn Anh Dũng

Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khảc bảng
Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.





Buôn Ma Thuột, ngày 20 tháng 02 năm 2020

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đãk Lãk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 15/02/2020
- 6. Ngày trả kết quả: 20/02/2020

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2 Ea Nhái 3	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996
Buôn Phong 1	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 2	Phosphat $(PO_4^{3-} tinh theo P)$	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

Tên mẫu	Kết quả phân tích					
	NH4 ⁺ (mg/l)	NO3 ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO ₄ ³⁻ (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)	
Ea Nhái 1	0,290	0,261	2,86	0,091	0,282	
Ea Nhái 2	0,293	0,270	2,91	0,116	0,296	
Ea Nhái 3	0,294	0,282	2,98	0,103	0,304	
Buôn Phong 1	0,134	0,117	1,03	0,072	0,134	
Buôn Phong 2	0,126	0,103	1,03	0,091	0,128	
Buôn Phong 3	0,131	0,106	1,09	0.084	0,149	

Phòng Phân tích trung tâm

Theyen This. Nguyên Ohi Huyên

Môi Trường ienviewsn CÔNG NGHÊ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG PGS-TS. Nguyễn Quang Vinh

- Kết quả có giả trị với mẫn gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cũng cấp.
- Mùu được lưu trữ 15 ngày kê từ ngày trả kết quả phân tích.





Buôn Ma Thuột, ngày 27 tháng 03 năm 2020

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 21/03/2020
- 6. Ngày trả kết quả: 27/03/2020

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích	
Ea Nhái 1	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995	
Ea Nhái 2 Ea Nhái 3	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996	
Buôn Phong 1	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000	
Buôn Phong 2	Phosphat $(PO_4^{3-} \text{tinh theo P})$	TCVN 6202 : 2008	
Buôn Phong 3	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008	

Tên mẫu	Kết quả phân tích						
	NH4 ⁺ (mg/l)	NO3 ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	$PO_4^{3-}(mg/l)$	Phospho tổng số (mg/l)		
Ea Nhái 1	0,392	0,192	3,75	0,103	0.321		
Ea Nhái 2	0,361	0,190	3,50	0,114	0.372		
Ea Nhái 3	0,383	0,198	3,75	0,109	0,348		
Buôn Phong 1	0,273	0,105	2,51	0,089	0,264		
Buôn Phong 2	0,270	0,098	2,80	0,081	0,231		
Buôn Phong 3	0,282	0,101	2,37	0,086	0,245		

Phòng Phân tích trung tâm

Viện CNSH và Môi Trường CONG NGH SINH HOC MOI TRUON ESTS. Nguyễn Quang Vinh

Uhuyen ThS. Muyen Chi Huyen

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.





Buôn Ma Thuột, ngày 29 tháng 04 năm 2020

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
- 2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu P. Eatam Tp.BMT Đăk Lăk
- 3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
- 4. Số lượng mẫu: 06
- 5. Ngày gửi mẫu: 23/04/2020
- 6. Ngày trả kết quả: 29/04/2020

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH ₄ ⁺)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO ₃ ⁻)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3 Puôn Phong 1	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 2	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

173	Kết quả phân tích									
Tên mẫu	NH4 ⁺ (mg/l)	$NO_3^-(mg/l)$	Nitơ tổng số (mg/l)	PO ₄ ³⁻ (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)					
Ea Nhái 1	0.368	0,179	3,46	0,098	0,279					
Ea Nhái 2	0.366	0,182	3,50	0,107	0,286					
Ea Nhái 3	0,360	0,182	3,56	0,102	0,281					
Buôn Phong 1	0.231	0,099	2,31	0,088	0,226					
Buôn Phong 2	0,229	0,107	2,38	0,079	0,210					
Buôn Phong 3	0,232	0,101	2,33 400	0.084	0,217					

Phòng Phân tích trung tâm Chuyen ThS. Nguyễn Thị Huyến

SH và Môi Trường CONVien C 0 SINH PGS-TS. Nguyễn Quang Vinh

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.

Tháng - Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục	TT	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР
Thang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	рп	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	EN1	25.54	50.89	8.72	0.162	0.27	0.068	1.86	0.156
5-2019	EN1	25.46	50.87	8.7	0.159	0.265	0.071	1.86	0.152
	EN1	25.51	50.94	8.7	0.16	0.269	0.07	1.88	0.148
	EN1	25.93	49.34	7.89	0.108	0.198	0.058	1.85	0.176
6-2019	EN1	25.9	49.56	7.92	0.109	0.195	0.063	1.84	0.188
	EN1	25.88	49.61	7.95	0.112	0.206	0.06	1.85	0.182
	EN1	26.97	75.18	8.02	0.098	0.193	0.061	1.29	0.154
7-2019	EN1	27.01	77.07	7.98	0.096	0.197	0.062	1.28	0.151
	EN1	27.03	79.06	8.03	0.104	0.203	0.058	1.26	0.146
	EN1	28.49	67.98	8.26	0.236	0.276	0.098	2.77	0.413
8-2019	EN1	28.51	68.56	8.27	0.239	0.277	0.105	2.78	0.406
	EN1	28.51	68.95	8.22	0.243	0.281	0.101	2.74	0.409
	EN1	28.01	55.98	7.66	0.154	0.201	0.089	1.59	0.225
9-2019	EN1	28.04	56.17	7.61	0.149	0.196	0.087	1.65	0.218
	EN1	27.94	56.44	7.58	0.147	0.194	0.093	1.6	0.219
	EN1	30.45	43.31	7.9	0.178	0.357	0.098	1.94	0.211
10-2019	EN1	30.49	43.09	7.89	0.18	0.362	0.101	1.97	0.209
	EN1	30.55	43.20	7.9	0.183	0.361	0.109	1.98	0.206

Phụ lục 3: Số liệu phân tích các yếu tố thủy lý, thủy hóa trong môi trường nước hồ Ea Nhái và nước hồ Buôn Phong Phụ lục 3.1. Số liệu phân tích các yếu tố thủy lý, thủy hóa trong môi trường nước hồ Ea Nhái

Tháng - Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục	nII	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР
Thang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	рп	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	EN1	30.12	52.82	7.93	0.201	0.154	0.093	2.34	0.256
11-2019	EN1	30.08	53.19	7.91	0.205	0.157	0.087	2.31	0.254
	EN1	30.11	52.68	7.93	0.2	0.165	0.088	2.37	0.259
	EN1	31.37	40.16	8.04	0.152	0.215	0.103	2.97	0.253
12-2019	EN1	31.22	40.28	8.06	0.15	0.211	0.101	2.98	0.26
	EN1	31.31	40.01	8.09	0.148	0.209	0.097	2.98	0.257
	EN1	29.65	36.09	7.14	0.156	0.252	0.089	3.26	0.196
1-2020	EN1	29.75	36.28	7.05	0.158	0.245	0.088	3.37	0.204
	EN1	29.71	36.15	7.13	0.163	0.247	0.092	3.3	0.201
	EN1	34.11	39.06	8.23	0.289	0.261	0.086	2.88	0.288
2-2020	EN1	33.87	38.75	8.18	0.295	0.258	0.089	2.85	0.276
	EN1	34.01	38.55	8.2	0.287	0.261	0.094	2.84	0.28
	EN1	28.65	40.18	8	0.381	0.189	0.097	3.79	0.324
3-2020	EN1	28.69	39.96	8	0.387	0.195	0.105	3.75	0.318
	EN1	28.77	40.03	8.02	0.392	0.194	0.103	3.71	0.321
	EN1	31.68	40.17	8.29	0.371	0.178	0.102	3.43	0.285
4-2020	EN1	31.72	40.01	8.25	0.367	0.183	0.102	3.47	0.281
	EN1	31.7	40.11	8.28	0.368	0.182	0.097	3.49	0.275

Tháng - Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục	nII	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	TP
Thang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	рп	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	EN2	24.96	45.7	8.14	0.146	0.272	0.069	1.83	0.196
5-2019	EN2	25.04	45.94	8.07	0.148	0.265	0.068	1.89	0.204
	EN2	25.01	45.77	8.13	0.153	0.267	0.072	1.85	0.201
	EN2	25.98	52.76	8.04	0.11	0.201	0.067	1.69	0.195
6-2019	EN2	25.8	52.35	7.99	0.112	0.198	0.069	1.67	0.187
	EN2	25.91	52.08	8.01	0.109	0.201	0.073	1.67	0.19
	EN2	27.45	53.36	8.11	0.127	0.199	0.058	1.32	0.172
7-2019	EN2	27.49	53.07	8.11	0.129	0.205	0.063	1.31	0.169
	EN2	27.57	53.16	8.13	0.131	0.204	0.062	1.3	0.171
	EN2	27.98	61.31	8.23	0.201	0.218	0.092	2.32	0.417
8-2019	EN2	28.02	61.06	8.19	0.198	0.224	0.092	2.35	0.411
	EN2	28	61.22	8.22	0.199	0.222	0.087	2.36	0.403
	EN2	29.05	66.29	7.82	0.162	0.2	0.097	1.64	0.229
9-2019	EN2	28.95	66.26	7.8	0.159	0.196	0.101	1.64	0.223
	EN2	29.01	66.35	7.8	0.16	0.199	0.1	1.66	0.217
10-2019	EN2	30.03	47.35	7.92	0.177	0.356	0.097	2.1	0.225
	EN2	30	47.53	7.95	0.178	0.351	0.105	2.09	0.24
	EN2	29.98	47.61	7.98	0.183	0.371	0.1	2.1	0.233

Tháng - Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục	nII	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР
I nang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	рн	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	EN2	29.87	49.34	8.01	0.196	0.154	0.102	2.06	0.236
11-2019	EN2	29.91	50.58	7.97	0.192	0.158	0.103	2.04	0.232
	EN2	29.93	51.89	8.02	0.208	0.162	0.097	2.01	0.224
	EN2	31.59	38.29	8.01	0.157	0.227	0.098	3.08	0.272
12-2019	EN2	31.61	38.61	8.02	0.159	0.228	0.105	3.09	0.267
	EN2	31.61	38.83	7.97	0.162	0.231	0.101	3.05	0.269
	EN2	29.21	37.07	7.13	0.175	0.281	0.089	3.47	0.225
1-2020	EN2	29.24	37.2	7.08	0.169	0.274	0.087	3.62	0.218
	EN2	29.14	37.38	7.05	0.167	0.272	0.093	3.51	0.219
	EN2	31.95	39.21	8.31	0.287	0.268	0.118	2.88	0.301
2-2020	EN2	31.99	39.01	8.3	0.29	0.272	0.121	2.92	0.299
	EN2	32.05	39.11	8.31	0.295	0.271	0.131	2.94	0.294
	EN2	29.02	40.06	8.24	0.362	0.183	0.114	3.5	0.364
3-2020	EN2	28.98	40.34	8.22	0.369	0.186	0.106	3.46	0.367
	EN2	29.01	39.95	8.24	0.36	0.196	0.108	3.54	0.369
4-2020	EN2	31.87	40.07	8.28	0.375	0.184	0.103	3.49	0.272
	EN2	31.72	40.19	8.3	0.37	0.181	0.101	3.5	0.28
	EN2	31.81	39.92	8.33	0.365	0.179	0.097	3.5	0.277

Tháng Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục		N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР
I nang - Ivam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	pН	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	EN3	25.46	49.39	8.24	0.137	0.323	0.079	1.82	0.17
5-2019	EN3	25.54	49.65	8.17	0.138	0.314	0.078	1.88	0.17
	EN3	25.51	49.47	8.23	0.143	0.316	0.082	1.84	0.17
	EN3	26.18	56.42	8.1	0.11	0.211	0.067	1.75	0.2
6-2019	EN3	26	55.94	8.05	0.112	0.208	0.069	1.73	0.19
	EN3	26.11	55.65	8.07	0.109	0.211	0.073	1.73	0.19
	EN3	27.95	58.07	8.14	0.176	0.249	0.058	1.56	0.16
7-2019	EN3	27.99	57.76	8.14	0.179	0.257	0.063	1.54	0.16
	EN3	28.07	57.86	8.16	0.181	0.255	0.062	1.52	0.16
	EN3	27.98	70.62	8.32	0.211	0.237	0.092	2.52	0.41
8-2019	EN3	28.02	70.37	8.28	0.208	0.244	0.092	2.55	0.4
	EN3	28	70.52	8.31	0.209	0.243	0.087	2.56	0.39
	EN3	28.04	99.98	7.74	0.172	0.2	0.097	1.67	0.24
9-2019	EN3	27.96	99.94	7.72	0.169	0.196	0.101	1.67	0.23
	EN3	28.01	100.08	7.72	0.17	0.199	0.1	1.69	0.23
	EN3	29.95	42.01	7.98	0.178	0.357	0.098	2.22	0.22
10-2019	EN3	29.99	41.79	7.97	0.18	0.362	0.101	2.25	0.22
	EN3	30.05	41.9	7.98	0.183	0.361	0.109	2.26	0.22
	EN3	29.22	54.92	7.99	0.201	0.164	0.103	2.1	0.25
11-2019	EN3	29.18	55.3	7.97	0.205	0.167	0.097	2.07	0.24
	EN3	29.21	54.77	7.99	0.2	0.175	0.098	2.13	0.25

Tháng - Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục		N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР
Thang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	pН	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	EN3	31.37	38.53	8.08	0.152	0.225	0.093	2.81	0.25
12-2019	EN3	31.22	38.64	8.1	0.15	0.221	0.091	2.82	0.26
	EN3	31.31	38.39	8.13	0.148	0.219	0.087	2.82	0.26
	EN3	29.03	38.95	7.2	0.177	0.257	0.087	3.46	0.21
1-2020	EN3	29	39.13	7.23	0.178	0.254	0.095	3.47	0.22
	EN3	28.98	39.17	7.26	0.183	0.268	0.09	3.46	0.21
	EN3	29.97	39.62	8.25	0.284	0.27	0.102	3	0.31
2-2020	EN3	30.01	40.61	8.21	0.278	0.276	0.103	2.98	0.3
	EN3	30.03	41.66	8.26	0.302	0.284	0.097	2.96	0.29
	EN3	28.79	39.93	8.31	0.374	0.197	0.108	3.76	0.35
3-2020	EN3	28.81	40.28	8.32	0.378	0.198	0.116	3.78	0.35
	EN3	28.81	40.5	8.27	0.385	0.201	0.111	3.72	0.35
4-2020	EN3	31.71	39.95	8.33	0.37	0.181	0.099	3.52	0.29
	EN3	31.75	40.09	8.28	0.358	0.176	0.097	3.62	0.28
	EN3	31.63	40.28	8.25	0.353	0.175	0.103	3.54	0.28

Tháng Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục	DH I	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	TP
Thang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	рп	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	BP1	26.89	23.95	7.58	0.231	0.096	0.093	2.33	0.22
5-2019	BP1	26.7	23.76	7.71	0.228	0.099	0.089	2.3	0.227
	BP1	26.81	23.63	7.53	0.231	0.104	0.09	2.29	0.24
	BP1	26.95	21.56	6.71	0.179	0.087	0.071	2	0.17
6-2019	BP1	26.99	21.45	6.65	0.185	0.095	0.07	1.98	0.17
	BP1	27.07	21.48	6.73	0.184	0.093	0.07	1.96	0.17
	BP1	25.98	19.33	7.54	0.109	0.265	0.051	1.55	0.18
7-2019	BP1	26.02	19.26	7.55	0.112	0.265	0.05	1.56	0.18
	BP1	26	19.3	7.48	0.111	0.252	0.049	1.57	0.18
	BP1	28.04	23.4	7.72	0.11	0.136	0.073	1.39	0.13
8-2019	BP1	27.96	23.39	7.63	0.108	0.142	0.071	1.39	0.13
	BP1	28.01	23.42	7.68	0.11	0.14	0.069	1.41	0.13
	BP1	26.96	28.67	7.22	0.139	0.284	0.06	1.16	0.307
9-2019	BP1	26.99	28.53	7.3	0.141	0.293	0.06	1.18	0.312
	BP1	27.04	28.6	7.38	0.14	0.303	0.059	1.18	0.313
10-2019	BP1	27.02	27.96	6.74	0.135	0.217	0.079	1.33	0.13
	BP1	26.98	28.15	6.68	0.137	0.203	0.078	1.31	0.13
	BP1	27.01	27.88	6.71	0.144	0.205	0.08	1.35	0.13

Phụ lục 3.2. Số liệu phân tích các yếu tố thủy lý, thủy hóa trong môi trường nước hồ Buôn Phong

Tháng - Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục	nII	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР
I nang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	рн	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	BP1	28.06	20.11	6.92	0.102	0.196	0.088	1.4	0.134
11-2019	BP1	27.93	20.17	6.83	0.1	0.192	0.09	1.44	0.126
	BP1	28.01	20.03	6.74	0.1	0.184	0.089	1.35	0.127
	BP1	29.03	15.05	6.91	0.139	0.116	0.088	1.16	0.096
12-2019	BP1	29	15.12	6.99	0.137	0.126	0.094	1.2	0.098
	BP1	28.98	15.13	7.14	0.144	0.12	0.091	1.18	0.103
	BP1	32.06	22.34	6.82	0.135	0.183	0.062	1.28	0.13
1-2020	BP1	32.11	22.9	6.91	0.138	0.186	0.06	1.27	0.13
	BP1	32.14	23.49	7.02	0.142	0.174	0.058	1.25	0.13
	BP1	30.99	20.77	6.59	0.138	0.176	0.06	1.23	0.09
2-2020	BP1	31.01	20.95	6.67	0.139	0.189	0.059	1.24	0.09
	BP1	31.01	21.07	6.75	0.141	0.182	0.06	1.22	0.09
	BP1	31.21	23.61	7.99	0.131	0.119	0.072	1.02	0.131
3-2020	BP1	31.24	23.69	7.73	0.127	0.116	0.069	1.06	0.13
	BP1	31.16	23.8	7.62	0.126	0.124	0.07	1.02	0.129
4-2020	BP1	27.25	22.24	7.51	0.242	0.109	0.088	2.47	0.261
	BP1	27.35	22.36	7.41	0.235	0.108	0.092	2.56	0.258
	BP1	27.31	22.28	7.58	0.237	0.112	0.09	2.5	0.261

Tháng - Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục	ъП	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР
I nang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	рп	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	BP2	26.76	23.53	7.67	0.235	0.113	0.078	2.34	0.217
5-2019	BP2	26.63	23.6	7.57	0.231	0.111	0.08	2.38	0.203
	BP2	26.71	23.44	7.47	0.229	0.107	0.079	2.41	0.205
	BP2	26.53	21.31	6.58	0.188	0.087	0.059	1.96	0.183
6-2019	BP2	26.5	21.41	6.62	0.185	0.095	0.063	2.03	0.186
	BP2	26.48	21.43	6.74	0.196	0.09	0.061	2	0.196
	BP2	25.47	19.99	7.65	0.106	0.224	0.051	1.41	0.16
7-2019	BP2	25.51	20.49	7.74	0.108	0.227	0.05	1.4	0.159
	BP2	25.53	21.02	7.71	0.112	0.213	0.049	1.38	0.16
	BP2	27.49	20.84	7.44	0.079	0.147	0.06	1.53	0.12
8-2019	BP2	27.51	21.02	7.47	0.079	0.158	0.059	1.53	0.12
	BP2	27.51	21.14	7.59	0.08	0.152	0.06	1.51	0.12
	BP2	27.51	27.99	7.78	0.141	0.237	0.061	1.16	0.302
9-2019	BP2	27.54	28.09	7.53	0.137	0.232	0.059	1.2	0.3
	BP2	27.44	28.22	7.43	0.136	0.248	0.06	1.16	0.298
	BP2	26.46	32.53	6.73	0.141	0.208	0.078	1.3	0.131
10-2019	BP2	26.54	32.7	6.75	0.137	0.205	0.082	1.34	0.129
	BP2	26.51	32.58	6.93	0.138	0.215	0.08	1.32	0.13
11-2019	BP2	27.59	17.12	6.77	0.1	0.182	0.093	1.27	0.124

Tháng - Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục	ъП	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР
1 nang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	рп	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	BP2	27.39	16.98	6.87	0.099	0.188	0.089	1.26	0.129
	BP2	27.51	16.89	6.72	0.1	0.198	0.09	1.25	0.136
	BP2	28.45	12.64	7.08	0.149	0.116	0.091	1.3	0.12
12-2019	BP2	28.49	12.57	7.03	0.154	0.126	0.089	1.29	0.12
	BP2	28.57	12.59	7.12	0.153	0.124	0.09	1.28	0.12
	BP2	32.18	23.14	7.03	0.129	0.173	0.071	1.37	0.13
1-2020	BP2	32.22	23.05	7.04	0.132	0.173	0.07	1.38	0.13
	BP2	32.2	23.11	6.97	0.131	0.165	0.069	1.39	0.13
	BP2	30.85	22.01	6.75	0.14	0.155	0.052	1.38	0.1
2-2020	BP2	30.75	22	6.66	0.137	0.162	0.051	1.38	0.1
	BP2	30.81	22.03	6.7	0.139	0.16	0.049	1.4	0.1
	BP2	31.35	23.46	7.61	0.129	0.098	0.09	1.02	0.129
3-2020	BP2	31.39	23.34	7.7	0.131	0.101	0.09	1.04	0.131
	BP2	31.45	23.4	7.8	0.13	0.109	0.088	1.04	0.131
	BP2	28.32	23.07	7.53	0.26	0.103	0.079	2.8	0.23
4-2020	BP2	28.28	23.23	7.45	0.265	0.097	0.078	2.76	0.23
	BP2	28.31	23	7.49	0.278	0.098	0.08	2.84	0.23

Tháng Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục	ъЦ	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	TP
Thang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	рп	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	BP3	27.07	22.89	7.47	0.222	0.102	0.082	2.35	0.22
5-2019	BP3	27.11	23.46	7.58	0.227	0.103	0.081	2.33	0.219
	BP3	27.13	24.07	7.52	0.233	0.097	0.078	2.29	0.221
	BP3	26.99	21.06	6.69	0.187	0.088	0.071	2.04	0.19
6-2019	BP3	27.01	21.24	6.77	0.188	0.095	0.069	2.04	0.19
	BP3	27.01	21.36	6.85	0.191	0.091	0.07	2.02	0.189
7-2019	BP3	26.01	22.71	7.63	0.121	0.247	0.051	1.44	0.181
	BP3	26.04	22.79	7.58	0.118	0.242	0.05	1.5	0.18
	BP3	25.94	22.9	7.68	0.116	0.258	0.05	1.45	0.179
	BP3	27.95	23.95	7.71	0.101	0.148	0.059	1.27	0.141
8-2019	BP3	28.05	24.07	7.65	0.098	0.147	0.061	1.31	0.139
	BP3	28.01	23.99	7.74	0.099	0.153	0.06	1.29	0.14
	BP3	27.59	42.59	7.39	0.131	0.268	0.062	1.2	0.315
9-2019	BP3	27.39	42.26	7.52	0.129	0.277	0.059	1.19	0.326
	BP3	27.51	42.04	7.34	0.131	0.292	0.06	1.18	0.345
	BP3	26.45	37.61	6.74	0.149	0.213	0.081	1.34	0.13
10-2019	BP3	26.49	37.41	6.69	0.154	0.231	0.08	1.33	0.13
	BP3	26.56	37.47	6.8	0.153	0.227	0.08	1.32	0.13
11-2019	BP3	27.98	24.44	6.82	0.109	0.194	0.092	1.33	0.12

Tháng Năm	Điểm	Nhiệt	Độ đục	лU	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	ТР
Thang - Nam	thu mẫu	độ (°C)	(NTU)	рп	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
	BP3	28.02	24.35	6.81	0.112	0.194	0.09	1.34	0.12
	BP3	28	24.41	6.76	0.111	0.184	0.088	1.35	0.12
	BP3	29.05	17.5	7.13	0.14	0.117	0.094	1.2	0.14
12-2019	BP3	28.95	17.49	7.06	0.137	0.122	0.091	1.2	0.14
	BP3	29.01	17.51	7.1	0.139	0.12	0.089	1.22	0.14
	BP3	32.15	23.76	6.89	0.119	0.176	0.06	1.31	0.119
1-2020	BP3	32.19	23.64	6.97	0.121	0.182	0.06	1.33	0.121
	BP3	32.25	23.7	7.05	0.12	0.196	0.059	1.33	0.121
	BP3	30.92	21.1	6.64	0.135	0.165	0.049	1.42	0.09
2-2020	BP3	30.88	21.25	6.58	0.137	0.155	0.049	1.4	0.09
	BP3	30.91	21.04	6.61	0.144	0.156	0.05	1.44	0.09
	BP3	31.57	23.39	7.72	0.133	0.113	0.078	1.09	0.155
3-2020	BP3	31.42	23.46	7.63	0.131	0.111	0.08	1.09	0.145
	BP3	31.51	23.3	7.53	0.129	0.107	0.079	1.08	0.147
	BP3	28.23	22.95	7.39	0.277	0.097	0.088	2.33	0.241
4-2020	BP3	28.2	23.05	7.33	0.273	0.105	0.094	2.41	0.245
	BP3	28.18	23.07	7.48	0.288	0.1	0.091	2.37	0.258

Tháng - năm	Điểm thu mẫu	Mật độ R. raciborskii (tb/L)	Thể tích sinh học R. raciborskii (mm ³ /L)	Mật độ R. curvata (tb/L)	Thể tích sinh học R. curvata (mm ³ /L)	Mật độ R. mediterranea (tb/L)	Thể tích sinh học R. mediterranea (mm ³ /L)	Mật độ Microcystis (tb/L)	Thể tích sinh học Microcystis (mm ³ /L)	mật độ Merismopedia tenuissima (tb/L)	Thể tích sinh học Merismopedia tenuissima (mm ³ /L)	<i>Mật độ</i> <i>Lynbya</i> sp. (tb/L)	Thể tích sinh học Lynbya sp. (mm ³ /L)	Thể tích sinh học VKL (mm³/L)	CYN (µg/L)
Thg5-19	EN1	428.400.000	0,57	1.050.100	0,001	0	0	0	0	753.100	0,005	0	0	0,58	1,09
Thg6-19	EN1	583.390.000	1,17	970.300	0,002	0	0	0	0	705.060	0,005	0	0	1,18	0,95
Thg7-19	EN1	310.610.000	1,14	911.160	0,003	0	0	0	0	540.000	0,003	0	0	1,14	1,14
Thg8-19	EN1	2.299.550.000	4,10	790.600	0,001	0	0	0	0	491.080	0,003	0	0	4,10	1,19
Thg9-19	EN1	856.380.000	3,38	743.670	0,003	0	0	0	0	462.000	0,003	15.915.700	0,26	3,65	1,16
Thg10-19	EN1	1.805.400.000	13,14	891.670	0,006	0	0	0	0	650.100	0,004	17.021.000	0,28	13,43	1,28
Thg11-19	EN1	2.740.640.000	21,52	1.010.980	0,008	517.920	0,004	67.857	0,006	552.000	0,004	17.902.000	0,30	21,84	1,31
Thg12-19	EN1	2.206.080.000	19,94	1.015.253	0,009	698.710	0,006	81.176	0,007	561.100	0,004	94.307.000	1,56	21,53	1,21
Thg1-20	EN1	3.824.100.000	48,45	2.560.770	0,032	786.542	0,010	150.289	0,013	790.000	0,005	75.728.000	1,25	49,76	1,30
Thg2-20	EN1	3.983.700.000	44,74	3.680.220	0,041	987.021	0,011	774.566	0,067	880.870	0,006	99.708.000	1,65	46,51	1,37
Thg3-20	EN1	3.871.800.000	56,78	5.081.000	0,075	971.203	0,014	651.163	0,056	868.000	0,006	108.504.000	1,79	58,72	1,25
Thg4-20	EN1	3.042.000.000	46,49	5.150.540	0,079	1.059.172	0,016	11.561	0,001	1.907.000	0,012	0	0	46,60	1,32
Thg5-19	EN2	428.800.000	1,65	1.012.000	0,004	0	0	0	0	829.800	0,005	0	0	1,66	1,18
Thg6-19	EN2	258.870.000	0,55	1.102.000	0,002	0	0	0	0	670.000	0,004	0	0	0,56	1,19
Thg7-19	EN2	433.490.000	0,68	918.800	0,001	0	0	0	0	625.310	0,004	0	0	0,69	1,26
Thg8-19	EN2	2.162.880.000	4,26	930.230	0,002	0	0	0	0	540.700	0,003	0	0	4,26	1,19
Thg9-19	EN2	914.070.000	5,64	760.120	0,005	0	0	0	0	510.900	0,003	16.509.800	0,27	5,92	1,13
Thg10-19	EN2	2.222.970.000	24,24	870.230	0,009	0	0	0	0	463.100	0,003	16.808.500	0,28	24,53	1,25
Thg11-19	EN2	3.089.710.000	44,49	973.138	0,014	496.743	0,007	79.762	0,007	584.010	0,004	17.713.000	0,29	44,81	1,33
Thg12-19	EN2	2.583.680.000	32,24	1.050.670	0,013	700.432	0,009	82.353	0,007	595.270	0,004	98.603.000	1,63	33,90	1,29
Thg1-20	EN2	6.239.330.000	63,78	2.431.320	0,025	743.568	0,008	196.532	0,017	830.900	0,005	76.531.000	1,26	65,10	1,30
Thg2-20	EN2	4.412.840.000	56,43	4.050.710	0,052	879.643	0,011	786.127	0,068	1.050.100	0,007	98.723.100	1,63	58,19	1,42
Thg3-20	EN2	2.870.400.000	52,27	5.032.020	0,092	962.135	0,018	697.674	0,060	880.800	0,006	115.823.000	1,91	54,35	1,33
Thg4-20	EN2	4.826.250.000	76,67	4.565.440	0,073	997.543	0,016	57.803	0,005	2.040.500	0,013	0	0	76,77	1,35
Thg5-19	EN3	374.730.000	0,39	983.100	0,001	0	0	0	0	771.130	0,005	0	0	0,39	0,76
Thg6-19	EN3	291.370.000	0,61	881.500	0,002	0	0	0	0	581.600	0,004	0	0	0,62	1,15
Thg7-19	EN3	460.930.000	0,73	805.000	0,001	0	0	0	0	526.030	0,003	0	0	0,74	1,28

Phụ lục 4: Thể tích sinh học VKL ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong Phụ lục 4.1. Thể tích sinh học VKL ở hồ Ea Nhái

Tháng - năm	Điểm thu mẫu	Mật độ R. raciborskii (tb/L)	Thể tích sinh học R. raciborskii (mm³/L)	Mật độ R. curvata (tb/L)	Thể tích sinh học R. curvata (mm ³ /L)	Mật độ R. mediterranea (tb/L)	Thể tích sinh học R. mediterranea (mm³/L)	Mật độ Microcystis (tb/L)	Thể tích sinh học Microcystis (mm ³ /L)	mật độ Merismopedia tenuissima (tb/L)	Thể tích sinh học Merismopedia tenuissima (mm³/L)	<i>Mật độ Lynbya</i> sp. (tb/L)	Thể tích sinh học Lynbya sp. (mm ³ /L)	Thể tích sinh học VKL (mm ³ /L)	CYN (µg/L)
Thg8-19	EN3	2.441.740.000	2,86	947.800	0,001	0	0	0	0	494.070	0,003	0	0	2,86	1,27
Thg9-19	EN3	890.910.000	11,95	845.010	0,011	0	0	0	0	502.050	0,003	16.209.800	0,27	12,23	1,21
Thg10-19	EN3	2.796.010.000	34,79	1.010.540	0,013	0	0	0	0	453.200	0,003	16.609.000	0,27	35,08	1,25
Thg11-19	EN3	3.372.370.000	41,61	965.085	0,012	520.976	0,006	78.571	0,007	549.060	0,004	18.823.000	0,31	41,94	1,32
Thg12-19	EN3	2.218.800.000	38,98	1.024.980	0,018	702.318	0,012	81.176	0,007	667.240	0,004	95.615.000	1,58	40,60	1,31
Thg1-20	EN3	4.721.500.000	64,74	2.430.850	0,033	769.541	0,011	173.410	0,015	921.400	0,006	82.135.000	1,36	66,16	1,33
Thg2-20	EN3	3.447.680.000	68,32	3.951.770	0,078	971.054	0,019	832.370	0,072	920.900	0,006	116.683.000	1,93	70,42	1,15
Thg3-20	EN3	3.763.200.000	63,73	4.725.460	0,080	967.832	0,016	755.814	0,065	890.500	0,006	111.705.000	1,84	65,74	1,29
Thg4-20	EN3	4.917.900.000	77,34	5.225.490	0,082	1.018.723	0,016	46.243	0,004	1.990.100	0,013	0	0	77,45	1,36

Tháng	Điểm thu mẫu	Mật độ <i>R.</i> <i>raciborskii</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>R</i> . <i>raciborskii</i> (mm³/L)	Mật độ <i>Anabaena</i> sp.2 (tb/L)	Thê tích sinh học <i>Anabaena</i> sp.2 (mm ³ /L)	Mật độ <i>Microcystis</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Microcystis</i> (mm ³ /L)	Thể tích sinh học VKL (mm³/L)	Hàm lượng CYN (µg/L)
Thg5-19	BP1	83.300.000	0,81	2.667.000	0,11	108.730.000	9,68	10,59	-0,42
Thg6-19	BP1	57.287.000	0,12	2.354.000	0,08	144.950.000	12,32	12,52	0,33
Thg7-19	BP1	50.740.000	0,19	2.895.000	0,09	72.389.000	6,26	6,54	0,24
Thg8-19	BP1	80.640.000	0,14	2.543.000	0,08	52.877.000	4,57	4,80	0,10
Thg9-19	BP1	93.513.000	0,37	2.565.000	0,08	87.966.000	7,57	8,02	0,39
Thg10-19	BP1	91.424.000	0,67	2.871.000	0,10	90.786.000	7,85	8,62	0,27
Thg11-19	BP1	222.240.000	1,74	3.537.000	0,13	198.721.000	16,69	18,57	0,29
Thg12-19	BP1	248.403.000	2,25	16.683.000	0,70	201.920.000	17,16	20,11	0,25
Thg1-20	BP1	131.320.000	1,66	84.840.000	3,69	374.766.000	32,42	37,78	0,37
Thg2-20	BP1	213.640.000	2,40	25.760.000	1,25	398.721.000	34,49	38,14	0,57
Thg3-20	BP1	309.792.000	4,54	34.560.000	1,68	270.537.000	42,36	48,58	0,47
Thg4-20	BP1	487.746.000	7,45	26.576.000	1,32	489.674.000	16,27	25,04	0,73
Thg5-19	BP2	98.175.000	0,80	3.680.000	0,13	110.283.000	9,82	10,75	-0,06
Thg6-19	BP2	54.267.000	0,12	1.987.000	0,07	138.590.000	11,78	11,96	0,20
Thg7-19	BP2	51.410.000	0,08	2.764.000	0,09	76.832.000	6,65	6,82	0,37
Thg8-19	BP2	81.280.000	0,16	2.439.000	0,08	55.344.000	4,79	5,03	0,39
Thg9-19	BP2	90.213.000	0,56	2.514.000	0,09	88.967.000	7,65	8,30	0,39
Thg10-19	BP2	71.698.000	0,78	3.102.000	0,13	91.254.000	7,89	8,80	0,30

Phụ lục 4.2. Thể tích sinh học VKL ở hồ Buôn Phong

Tháng	Điểm thu mẫu	Mật độ <i>R.</i> <i>raciborskii</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>R.</i> <i>raciborskii</i> (mm³/L)	Mật độ <i>Anabaena</i> sp.2 (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Anabaena</i> sp.2 (mm ³ /L)	Mật độ <i>Microcystis</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Microcystis</i> (mm ³ /L)	Thể tích sinh học VKL (mm ³ /L)	Hàm lượng CYN (µg/L)
Thg11-19	BP2	117.504.000	1,69	3.648.000	0,13	187.560.000	15,76	17,58	0,30
Thg12-19	BP2	258.570.000	3,23	13.475.000	0,56	178.234.000	15,15	18,94	0,29
Thg1-20	BP2	177.320.000	1,81	70.737.000	3,18	382.543.000	33,09	38,08	0,28
Thg2-20	BP2	348.923.000	4,46	31.250.000	1,54	389.786.000	33,72	39,72	0,53
Thg3-20	BP2	311.880.000	5,68	66.640.000	3,27	290.867.000	44,37	53,32	0,45
Thg4-20	BP2	699.270.000	11,11	38.454.000	1,73	512.930.000	17,01	29,85	0,71
Thg5-19	BP3	38.150.000	0,80	3.085.000	0,11	108.587.000	9,66	10,57	0,60
Thg6-19	BP3	63.323.000	0,13	2.134.000	0,08	147.920.000	12,57	12,78	0,24
Thg7-19	BP3	58.554.000	0,09	2.654.000	0,09	73.529.000	6,36	6,54	0,37
Thg8-19	BP3	84.000.000	0,10	2.765.000	0,09	53.779.000	4,65	4,84	0,46
Thg9-19	BP3	89.259.000	1,20	2.822.000	0,11	117.367.000	10,09	11,40	0,33
Thg10-19	BP3	77.718.000	0,97	3.347.000	0,13	87.594.000	7,58	8,68	-0,20
Thg11-19	BP3	100.640.000	1,24	3.476.000	0,13	137.939.000	11,59	12,95	0,37
Thg12-19	BP3	144.898.000	2,55	16.125.000	0,69	202.956.000	17,25	20,49	0,16
Thg1-20	BP3	171.908.000	2,36	61.425.000	2,62	37.394.000	3,23	8,21	0,42
Thg2-20	BP3	300.860.000	5,96	24.173.000	1,25	471.043.000	40,75	47,95	0,58
Thg3-20	BP3	445.280.000	7,54	52.288.000	2,18	295.936.000	43,40	53,12	0,29
Thg4-20	BP3	563.316.000	8,86	37.050.000	1,62	501.701.000	17,45	27,93	0,73